

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE FARMACIA**



## **MARCADORES DE INFECCIÓN EN PEDIATRÍA.**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Marta Duque Alcorta**

Bajo la dirección del doctor

Dr. D. Antonio Buño Soto

**Madrid, 2009**

- **ISBN: 978-84-692-5056-3**

**FACULTAD DE FARMACIA**



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE  
MADRID

# **Marcadores de Infección en Pediatría**

TESIS DOCTORAL

Marta Duque Alcorta  
Madrid, 2008

D. ANTONIO BUÑO SOTO, JEFE DE SECCION DEL SERVICIO DE ANALISIS CLINICOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ Y DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGIA POR LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID

CERTIFICA:

Que Dña. Marta Duque Alcorta ha realizado bajo mi dirección los trabajos de investigación clínica y de laboratorio correspondientes a su Tesis Doctoral titulada: “MARCADORES DE INFECCION EN PEDIATRIA”, que ha terminado con el mayor aprovechamiento y que reúne a mi juicio, méritos suficientes y rigor científico para poder optar al grado de Doctor en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, firma el presente en Madrid a 15 de septiembre de dos mil ocho.

FDO: DR. ANTONIO BUÑO SOTO

*No rechaces tus sueños  
¿Sin la ilusión, el mundo qué sería?*

*Ramón de Campoamor (1817-1901)*

*A mi familia, de manera especial a mis padres*

# Agradecimientos

A la Universidad de Navarra por abrirme la puerta al mundo de la sanidad

Al Hospital Universitario La Paz en cuyo seno me he formado como especialista en Bioquímica Clínica y donde he podido llevar a cabo el trabajo que presento en esta Tesis Doctoral

Al Dr. Buño por aceptar la dirección de este trabajo, su paciencia ante mis limitaciones y sus enseñanzas respecto al laboratorio clínico

A la Dra. Madero por su inestimable ayuda y orientación en el complicado campo de la estadística

Al Dr. Menéndez por introducirme en el desconocido mundo del neonato y sus explicaciones respecto del mismo

Al Dr. Castillo por sus claras indicaciones respecto al paciente pediátrico infeccioso

A la Dra. Herrero por su carácter envidiable, su enorme espíritu docente y por enseñarme las bases fundamentales de un laboratorio clínico

Al personal facultativo, residentes, personal técnico y administrativo del Laboratorio de Urgencias, Servicio de Neonatología, Servicio de Enfermedades Infecciosas Pediátricas y Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario La Paz por su ayuda desinteresada en la selección de pacientes, toma de muestras y datos necesarios sin los que este trabajo no hubiera sido posible

A mis amigos por sus ánimos y sus amables discursos para que este trabajo llegara a su fin

# INDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>13</b>
1.1	DEFINICIÓN DE INFECCIÓN.....	13
1.2	EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN .....	15
1.3	FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN .....	18
1.3.1	<i>Reconocimiento del agente patógeno. Activación de la cascada de reacciones.....</i>	<i>19</i>
1.3.2	<i>Sistemas y moléculas que intervienen en la respuesta inmune .....</i>	<i>22</i>
1.3.2.1	Fiebre.....	22
1.3.2.2	Sistema del complemento .....	22
1.3.2.3	Citocinas .....	23
1.3.2.4	Quimiocinas .....	29
1.3.2.5	Hemostasia.....	30
1.3.2.6	Sistema hematopoyético .....	38
1.3.2.7	Proteínas de fase aguda.....	44
1.4	PROTEÍNAS DE FASE AGUDA UTILIZADAS EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN .....	45
1.4.1	<i>Proteína C reactiva.....</i>	<i>45</i>
1.4.2	<i>Procalcitonina.....</i>	<i>50</i>
1.4.2.1	Procalcitonina y neumonía.....	62
1.4.2.2	Procalcitonina y sepsis.....	64
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>70</b>
2.1	OBJETIVO PRINCIPAL.....	70
2.2	OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	70
<b>3</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>72</b>
3.1	SUJETOS .....	72
3.1.1	<i>Población control.....</i>	<i>72</i>
3.1.2	<i>Pacientes.....</i>	<i>73</i>
3.2	PROTOCOLO DE ESTUDIO .....	75
3.3	MÉTODOS ANALÍTICOS.....	76
3.4	MÉTODOS ESTADÍSTICOS .....	78
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>80</b>
4.1	POBLACIÓN PEDIÁTRICA CONTROL NO NEONATOS .....	80
4.2	POBLACIÓN NORMAL DE NEONATOS NACIDOS A TÉRMINO .....	82
4.3	PACIENTES CON SOSPECHA DE INFECCIÓN DE VÍAS RESPIRATORIAS INFERIORES.....	84
4.4	NEONATOS INGRESADOS EN UCI .....	99
4.4.1	<i>Estudio de factores perinatales en la población de neonatos no infectados.....</i>	<i>102</i>
4.4.2	<i>Niveles de PCT y PCR de neonatos no infectados en las primeras horas de vida .....</i>	<i>102</i>
4.4.3	<i>Estudio de la capacidad diagnóstica de los marcadores de infección .....</i>	<i>111</i>
4.4.4	<i>Comportamiento de los marcadores de infección en función de la etiología de la infección.</i>	<i>128</i>
4.4.5	<i>Capacidad diagnóstica de los marcadores de infección en una bacteriemia versus sepsis ...</i>	<i>130</i>
<b>5</b>	<b>DISCUSION .....</b>	<b>133</b>
5.1	VALORES DE NORMALIDAD DE MARCADORES DE INFECCIÓN EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA .....	134
5.2	PACIENTES CON SOSPECHA DE INFECCIÓN DE VÍAS RESPIRATORIAS INFERIORES.....	137
5.3	PACIENTES NEONATOS CON SOSPECHA DE INFECCIÓN BACTERIANA, SEPSIS.....	144
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>152</b>
<b>7</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>156</b>

# Indice de tablas

Tabla 1. Clasificación de la población de neonatos en función del estudio clínico y del hemocultivo

Tabla 2. Valores de marcadores de infección en la población pediátrica control no neonatos

Tabla 3. Valores de marcadores de infección en la población pediátrica control no neonatos en función del sexo

Tabla 4. Valores de PCT (ng/mL) en sangre de cordón umbilical en función de distintas variables de la madre y del recién nacido

Tabla 5. Media y desviación estándar de los valores de distintos aspectos estudiados en función de la imagen de la placa de tórax

Tabla 6. Areas bajo la curva del valor absoluto de neutrófilos, PCR y PCT en función de la imagen de la placa de tórax en pacientes con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores

Tabla 7. Tipo de infección de vías respiratorias inferiores según estudio microbiológico

Tabla 8. Media y desviación estándar de las distintas variables estudiadas en función del estudio microbiológico

Tabla 9. Areas bajo la curva de marcadores de infección utilizando como criterio de clasificación el estudio microbiológico, pacientes con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* versus pacientes con serología positiva para bacterias atípicas y pacientes negativos

Tabla 10. Areas bajo la curva de las combinaciones de los marcadores de infección utilizando como criterio de clasificación el estudio microbiológico, pacientes con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* versus pacientes con serología positiva para bacterias atípicas y pacientes negativos

Tabla 11. Distribución de ciertas variables estudiadas en los grupos de neonatos

Tabla 12. Media y desviación estándar de los marcadores de infección en los grupos de neonatos

Tabla 13. Concentración de PCR y PCT de neonatos nacidos prematuros no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida

Tabla 14. Concentración de PCR y PCT de neonatos nacidos a término no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida



Tabla 15. Concentración de PCT de neonatos no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida sin tener en cuenta la prematuridad del recién nacido

Tabla 16. Concentración de PCR y PCT de neonatos no infectados de menos de 72 horas y de más de 72 horas de vida

Tabla 17. Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros

Tabla 18. Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término

Tabla 19. Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros de menos de 72 horas de vida

Tabla 20. Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros de más de 72 horas de vida

Tabla 21. Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término de menos de 72 horas de vida

Tabla 22. Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término de más de 72 horas de vida

Tabla 23. Areas bajo la curva del estudio de regresión logística multivariante de los marcadores de infección

Tabla 24. Media y desviación estándar de las concentraciones los marcadores de infección en función de la etiología de la infección

Tabla 25. Media y desviación estándar de los marcadores de infección en pacientes diagnosticados de sepsis y de bacteriemia

Tabla 26. Areas bajo la curva de los marcadores de infección de pacientes con bacteriemia *versus* sepsis en función de la prematuridad del recién nacido

# Indice de figuras

Figura 1. Cascada de las vías de coagulación

Figura 2. Curva ROC del valor absoluto de neutrófilos, PCR y PCT en función de la imagen de la placa de tórax en pacientes con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores

Figura 3. Media de la edad (años) de los niños, de la concentración de la PCR (mg/L) y de la PCT (ng/mL) en función del estudio microbiológico

Figura 4. Curva ROC del valor absoluto de neutrófilos, PCR, PCT en función del estudio microbiológico

Figura 5. Porcentaje de pacientes con imagen de condensación e infiltrados en la placa de tórax en función del estudio microbiológico

Figura 6. Curvas ROC del estudio de regresión logística multivariante con la imagen de la placa de tórax, la PCR, la PCT y sus combinaciones

Figura 7. Box-and-whiskers plot que representa la concentración de PCR en neonatos nacidos prematuros no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida

Figura 8. Box-and-whiskers plot que representa la concentración de PCT en neonatos nacidos prematuros no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida

Figura 9. Box-and-whiskers plot que representa la concentración de PCR en neonatos nacidos a término no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida

Figura 10. Box-and-whiskers plot que representa la concentración de PCT en neonatos nacidos a término no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida

Figura 11. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros

Figura 12. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término

Figura 13. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros de menos de 72 horas de vida

Figura 14. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros de más de 72 horas de vida

Figura 15. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término de menos de 72 horas de vida

Figura 16. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término de más de 72 horas de vida

Figura 17. Curva ROC del estudio de regresión logística multivariante de los marcadores de infección

# Abreviaturas

<b>AT</b>	<b>Antitrombina</b>
<b>AUC</b>	<b>Area bajo la curva</b>
<b>CID</b>	<b>Coagulación intravascular diseminada</b>
<b>CIR</b>	<b>Crecimiento intrauterino retardado</b>
<b>CMV</b>	<b>Citomegalovirus</b>
<b>Co</b>	<b>Sistema del complemento</b>
<b>COX</b>	<b>Ciclooxigenasa</b>
<b>DPV-IV</b>	<b>Dipeptidil peptidasa IV</b>
<b>EDTA</b>	<b>Etilendiaminotetraacético</b>
<b>EPCR</b>	<b>Receptor endotelial de la proteína C</b>
<b>FT</b>	<b>Factor tisular</b>
<b>FOD</b>	<b>Fiebre de origen desconocido</b>
<b>hs-PCR</b>	<b>Proteína C reactiva de alta sensibilidad</b>
<b>ICAM</b>	<b>Moléculas de adhesión intercelular</b>
<b>LPS</b>	<b>Lipopolisacárido</b>
<b>MIF</b>	<b>Factor inhibidor de la migración de macrófagos</b>
<b>N#</b>	<b>Valor absoluto de neutrófilos</b>
<b>NAC</b>	<b>Neumonía adquirida en la comunidad</b>
<b>NF-κB</b>	<b>Factor nuclear κB</b>
<b>NK</b>	<b>Natural Killer</b>
<b>NN</b>	<b>Neumonía nosocomial</b>
<b>NO</b>	<b>Oxido nítrico</b>
<b>PAR</b>	<b>Receptores activados de proteasas</b>
<b>PAF</b>	<b>Factor activador de plaquetas</b>
<b>PC</b>	<b>Proteína C</b>
<b>PCA</b>	<b>Proteína C activada</b>
<b>PCR</b>	<b>Proteína C reactiva</b>
<b>PCT</b>	<b>Procalcitonina</b>
<b>PG</b>	<b>Peptidoglicano</b>
<b>PMN</b>	<b>Polimorfonucleares</b>
<b>ROC</b>	<b>Receiving Operating Curve</b>
<b>SRIS</b>	<b>Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica</b>
<b>SDMO</b>	<b>Síndrome de disfunción multiorgánica</b>
<b>TFPI</b>	<b>Inhibidor del factor tisular</b>
<b>TNF</b>	<b>Factor de necrosis tumoral</b>
<b>TRACE</b>	<b>Time resolved amplified cryptate emission</b>
<b>TREM</b>	<b>Receptor disparador expresado en las células mieloides</b>
<b>TRL</b>	<b>Receptores Toll-like</b>
<b>Tx</b>	<b>Tromboxano</b>
<b>UCIN</b>	<b>Unidad de cuidados intensivos neonatales</b>
<b>uPA</b>	<b>Activador del plasminógeno tipo urocinasa</b>
<b>VCM</b>	<b>Volumen corpuscular medio</b>
<b>VIH</b>	<b>Virus de inmunodeficiencia humana</b>
<b>VSG</b>	<b>Velocidad de sedimentación globular</b>
<b>WBC</b>	<b>Valor de leucocitos totales</b>

# **1. INTRODUCCION**

# 1 Introducción

## 1.1 Definición de infección

En condiciones normales existe un equilibrio entre la interacción huésped-microorganismos de la piel, de las mucosas o del aire. Cuando se rompe este equilibrio se produce la infección, y por tanto la señal de activación de reacciones cuya función es restaurar la normalidad. Numerosos factores del huésped pueden influir en la posibilidad de adquirir una enfermedad infecciosa. Así, la edad (infancia y senectud) es reconocida como una de los principales factores de riesgo en la patología infecciosa. En situaciones carenciales, inmunodeficiencias, procesos patológicos no infecciosos subyacentes, gestación, intervenciones quirúrgicas y el estado emocional entre otros, predisponen al desequilibrio huésped-microorganismo culminando con la evidencia clínica de infección<sup>1,2</sup>.

Se define la infección como toda proliferación de un microorganismo en un epitelio o en el seno de un tejido que activa una serie de mecanismos en cadena que liberan sustancias al torrente sanguíneo y que se denomina Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS). Esta reacción de fase aguda puede producirse también en patologías no infecciosas como traumatismos, lesiones de reperfusión, pancreatitis, quemaduras graves, cirugía, etc<sup>3,4,5</sup>.

Existe un elevado número de pacientes que sufren un SRIS, y cuando la etiología de este proceso es infecciosa se le denomina sepsis. La evolución clínica del paciente podría desembocar en una hipotensión por sepsis, shock séptico, y síndrome de disfunción multiorgánica<sup>3,4</sup>.

La Conferencia de Consenso de médicos internistas de 1992 estableció los siguientes conceptos que se confirmaron en el año 2000 y los define como<sup>5,6,7</sup>:

- SRIS. Es una reacción inflamatoria generalizada tanto de causa infecciosa como por otros procesos (pancreatitis, isquemia, grandes quemados...) y que se manifiesta con dos o más de los siguientes signos: a) temperatura corporal mayor de 38° C o menor de 36° C; b) ritmo cardíaco mayor de 90 pulsaciones por minuto; c) ritmo respiratorio mayor de 20 respiraciones por minuto o presión arterial de CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>)

menor de 32 torr; y d) recuento leucocitario mayor de  $12,0 \times 10^3/\mu\text{L}$  o menor de  $4,0 \times 10^3/\mu\text{L}$ , o más del 10% de formas inmaduras.

- Sepsis. Se define como un SIRS de causa infecciosa.
- Shock séptico. Hipotensión inducida por sepsis o el requerimiento de vasopresores/ionotropos para mantener la presión sanguínea, pese a un aporte adecuado de fluidos, con la presencia de anormalidades de perfusión que puede incluir, pero no se limita a, acidosis láctica, oliguria o alteración aguda del estado mental.
- Síndrome de disfunción multiorgánica secundaria a sepsis (SDMO). Afección de dos o más órganos en un paciente agudo grave, en el que la homeostasis sólo puede mantenerse mediante intervención médica.
- Daño agudo pulmonar como manifestación aguda,  $\text{PaO}_2/\text{fracción inspirada de O}_2 (\text{FiO}_2)$  menor de 300 torr, infiltrados pulmonares bilaterales en placa de tórax posteroanterior, presión de la arteria pulmonar menor de 18 mm de mercurio (Hg) o no exista evidencia clínica de hipertensión atrial izquierda.
- Síndrome de distrés respiratorio agudo como manifestación aguda,  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  menor de 200 torr, infiltrados pulmonares bilaterales en placa de tórax posteroanterior, presión de la arteria pulmonar menor de 18 mm Hg o no exista evidencia clínica de hipertensión atrial izquierda.

Estas definiciones aplicables a la población adulta requieren puntualizaciones específicas en pediatría. Por este motivo 20 expertos de 5 países concretaron el alcance de las mismas en una Conferencia Consenso que tuvo lugar en el año 2001. Una de las características más importantes es la diferenciación en función de la edad (recién nacido, neonato, niño, niño que empieza a andar y preescolar, niño de colegio y adolescente y adulto joven, y dentro del recién nacido se diferencia a su vez, de 0 a 7 días). El motivo de esta clasificación es que la edad influye en la susceptibilidad de padecer una infección y en el tipo de agente patógeno responsable, en que la bradicardia solo es aplicable al recién nacido, en que el niño mantiene la presión sanguínea hasta que está gravemente enfermo y en que es necesario una temperatura elevada así como

una leucocitosis para diagnosticar un SIRS en un niño. Por este motivo se han propuesto marcadores bioquímicos mejor que las variables físicas como son la velocidad de sedimentación globular (VSG), la proteína C reactiva (PCR), la interleucina-6 (IL-6) y la procalcitonina (PCT), aunque se deben establecer unos puntos de corte adecuados para incluirlos en el panel. En esta Conferencia Consenso se ha propuesto un índice denominado “the Pediatric Logistic Organ Dysfunction Score” (PELOD) como indicador de dicha patología. Además los pacientes pediátricos inmunocomprometidos son más susceptibles que los adultos<sup>8,9</sup>.

## 1.2 Epidemiología de la infección

Las enfermedades infecciosas son un problema importante en la sociedad actual desde el punto de vista social y económico, debido a que son las responsables de 13,3 millones de muertes al año en el mundo y por tanto, la segunda causa de mortalidad mundial. Sin embargo, en la niñez y senectud es la primera causa debido a una mayor susceptibilidad del huésped a los agentes infecciosos, provocados por una exposición a nuevos ambientes en los primeros y una decadencia de la función inmunitaria y pérdida progresiva de mecanismos de defensa en los segundos<sup>4,10,11</sup>.

Aunque la máxima prevalencia de la infección afecta a los países subdesarrollados, las enfermedades infecciosas constituyen en el mundo occidental un grave problema sanitario. Estudios epidemiológicos realizados en Estados Unidos han demostrado que entre 1980 y 1996 la mortalidad debido a enfermedades infecciosas aumentó en un 64 % y que la incidencia de infección es de 300.000-500.000 casos/año, con una tasa de mortalidad de 100.000 defunciones anuales. Durante este periodo de estudio se observó que el número de pacientes sépticos había aumentado en un 13,7 % al año (pasando de 164.072 en 1979 a 659.935 en 2000). Estos mismos autores destacan que dos de cada tres pacientes infectados contrajeron la enfermedad en el ámbito hospitalario y que se observa una tendencia al incremento de procesos sépticos que podrían estar en relación con el envejecimiento de la población, el aumento de la esperanza de vida en pacientes con enfermedades crónicas y a la depresión del sistema inmunológico propia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Otros factores que pueden influir en este aumento de procesos sépticos son el gran uso de agentes antimicrobianos, tratamiento con glucocorticoides, utilización de catéteres permanentes, así como la ventilación mecánica<sup>12</sup>.



Cuando nos referimos a pacientes pediátricos y más concretamente a neonatos de bajo peso y de muy bajo peso estos datos aumentan hasta cifras alarmantes de 81,1 % y 63,6 % respectivamente, debido posiblemente a la inmadurez de sus sistemas fisiológicos y a que muchos de estos pacientes requieren medidas de soporte adicionales como respiradores, nutriciones artificiales (enterales y parenterales)...<sup>13, 14</sup>. Es importante destacar que en la población pediátrica existe una diferencia en el tratamiento en función de la edad, así como una mayor predisposición de los niños menores de 10 años a padecer un cuadro más grave frente a las niñas. Existen estudios que describen que en Estados Unidos en 1995 hubo más de 42.000 casos de sepsis en niños y jóvenes menores de 19 años con una estancia media de 31 días y un gasto por paciente de 40.600 dólares. Estas cifras reflejan la importancia y la incidencia de sepsis en la población infantil y la necesidad de poder identificar el agente causal de la infección para establecer un diagnóstico rápido, óptimo y una terapia adecuada<sup>15, 16, 17</sup>.

Los datos de patología infecciosa en nuestro país muestran también una prevalencia no desdeñable. El estudio epidemiológico de las enfermedades infecciosas realizado por la Sociedad Española de Medicina Preventiva ha revelado que de 56.321 pacientes con sospecha de infección, en 13.458 (23,9 %) se estableció un diagnóstico de certeza. De los pacientes infectados, en 3.768 (28 %) el origen de la infección fue nosocomial y 9.541 enfermos (70,9 %) habían adquirido la enfermedad en la comunidad. La Comunidad de Madrid participó en estas estadísticas con 5.616 pacientes de los cuales, 1.518 (27,2 %) padecían una enfermedad infecciosa y de ellos, el origen fue nosocomial en 370 (24,7 %) y adquirida en la comunidad 1.158 (76,3 %). Los autores de este trabajo analizaron la estancia media transcurrida desde el ingreso hospitalario hasta el diagnóstico de certeza en 3.052 pacientes seleccionados en base a la mayor frecuencia de localización de la patología infecciosa (urinaria, quirúrgica, respiratoria y bacteriemia). Globalmente, dicha estancia fue de  $25.1 \pm 38.2$  días<sup>18, 19</sup>.

Los datos anteriores reflejan que tanto en Estados Unidos como en España la sepsis es la responsable del 2 al 11 % de los ingresos en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y este porcentaje aumenta hasta un 42,5 % cuando se refieren a una UCI Pediátrica, de los cuales el 63 % padecen un shock séptico<sup>4</sup>.

El análisis de estos datos sugiere que el cortejo sindrómico de infección es frecuente en nuestro medio y sin embargo, se estima que aproximadamente solo uno de cada cuatro pacientes padecen una enfermedad infecciosa. Por otro lado estos resultados implican un elevado gasto hospitalario (gasto medio por paciente 41.600 dólares), tanto en estancia (31 días) como en tratamiento antibiótico profiláctico (abuso de antibióticos de amplio espectro)<sup>13</sup>. Hay que añadir que el uso indiscriminado de terapia antibiótica conlleva un aumento de resistencias bacterianas, y por tanto de una ineficacia para un tratamiento posterior, así como los efectos adversos de la terapia antibiótica<sup>11, 12</sup>.

A partir de estos estudios queda patente la necesidad de establecer un diagnóstico precoz y específico en patología infecciosa ya que las consecuencias clínicas, incremento de resistencias bacterianas y aumento de los costes son de enorme trascendencia. Sin embargo, la falta de especificidad de esta entidad clínica en lo que se refiere a los síntomas, signos y datos del laboratorio (con la única excepción de la demostración del agente patógeno, directa o indirectamente en el huésped) dificultan este objetivo.

En la práctica diaria el tiempo de respuesta de los estudios microbiológicos, en general, limita la posibilidad de establecer un diagnóstico etiológico temprano y la mayoría de los grupos de trabajo utilizan 2-3 marcadores de infección (reactantes de fase aguda) junto con los signos y síntomas del paciente para iniciar un tratamiento antimicrobiano empírico. Sin embargo, aún combinando estos marcadores entre si, su sensibilidad y especificidad no es del todo aceptable por lo que la búsqueda de un marcador de infección con alta sensibilidad y especificidad, de fácil realización y tiempo de respuesta rápido es el objetivo de numerosos investigadores, intentando con ello mejorar la evolución del paciente, disminuir la estancia en el hospital y la posible terapia antibiótica innecesaria<sup>20</sup>.

### 1.3 Fisiopatología de la infección

Cuando un microorganismo supera las barreras naturales de defensa se produce una respuesta inflamatoria que activa el sistema inmune del huésped, y en ocasiones es esta respuesta la responsable de la muerte. Unos autores defienden la teoría de una respuesta a la infección y el daño es producido por una inflamación descontrolada<sup>21</sup>, mientras que otros opinan que el organismo activa mecanismos de defensa antiinflamatorios<sup>22</sup>. Sin embargo, ambos coinciden que la activación de células inmunes y citocinas tienen un papel importante en la respuesta inflamatoria y que un bloqueo de estos mediadores conlleva un peor pronóstico, es decir se debe de mantener un equilibrio homeostático, que sea capaz de iniciar la inflamación y de evitar una respuesta exacerbada<sup>23</sup>.

Además existen diversos factores genéticos, como los polimorfismos en los genes de las citocinas, que podrían determinar la concentración de citocinas inflamatorias y/o antiinflamatorias que se sintetizan frente a la infección, de manera que el riesgo de muerte de un paciente con sepsis podría estar relacionado con el polimorfismo genético del factor de necrosis tumoral (TNF)  $\alpha$  y  $\beta$  del paciente<sup>24</sup>. También se han descrito polimorfismos genéticos en los receptores Toll, en el antígeno CD-14, en la lectina fijadora de manosa....<sup>25</sup>

Otro factor importante a tener en cuenta es la diferente respuesta frente a la infección de un individuo en función de la edad, debido a que existe una diferenciación distinta de linfocitos T, un cambio de los receptores de los linfocitos B y una disminución de la generación de memoria inmunológica<sup>26</sup>.

### 1.3.1 Reconocimiento del agente patógeno. Activación de la cascada de reacciones

Cuando un agente extraño entra en el organismo comienza a funcionar el sistema inmunitario del huésped. Existen dos tipos de respuesta inmune:

- Inmunidad natural, también se le denomina nativa o innata. Son los mecanismos que posee el individuo antes de estar en contacto con el agente patógeno. Es la respuesta más rápida y no específica frente a la infección. Forman parte de esta respuesta las barreras físicas, las células fagocíticas, los eosinófilos de sangre y tejidos, los linfocitos Natural Killer (NK) y algunas moléculas transportadoras de la sangre<sup>27</sup>. El sistema retículo endotelial, que está formado por células fagocitarias derivadas de los monocitos que se localizan en el hígado (células de Kupffer), en los pulmones (macrófagos alveolares), en el bazo, en los riñones, en el encéfalo y en los ganglios linfáticos, también elimina los microorganismos circulantes.

El epitelio de la piel y de las mucosas actúan como barrera física frente al microorganismo patógeno y poseen péptidos con actividad antimicrobiana ( $\beta$ -defensina en la mucosa de las células epiteliales de la mucosa intestinal y nasal, en queratinocitos), además se ha comprobado que estas defensinas intervienen modulando la respuesta inmune, ya que intervienen en la síntesis de las IL y algunas actúan como quimioreactantes.

En los últimos años se ha descubierto que los monocitos circulantes, macrófagos, células epiteliales y otras células fagocíticas expresan una familia de receptores, similar al receptor de *Drosophila*, que se les ha denominado Toll (TLR). Estos receptores median a través de la unión a las estructuras conservadas de los microorganismos (no es una unión antígeno específico) con mediadores intracitoplasmáticos de transcripción para desencadenar la respuesta inmune. Existen en humanos, por lo menos 10 TLR con un amplio abanico de unión a estructuras microbianas, como al lipopolisacárido (LPS) (Gram negativas), lipoproteínas bacterianas (Gram positivas), ácidos lipoteicoicos (Gram positivas), peptidoglicano (PG) de la pared bacteriana, componentes de la

pared de levaduras y micobacterias, dinucleótidos no metilados del ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano y ácido ribonucleico (ARN) viral.

La señal tiene lugar a través de un mecanismo en el que se produce una translocación del factor nuclear  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ). Este es un factor de transcripción que activa los promotores de los genes de gran cantidad de citocinas y de otras moléculas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$ , la IL-1, la IL-6 y la IL-8.

Se ha demostrado que una deficiencia en estos receptores conlleva una mayor colonización bacteriana debido a que son capaces de controlar la replicación bacteriana aumentando los niveles de lipocalina-2 (TLR-4), incluso su déficit provoca una mayor susceptibilidad frente a radiaciones, así como su estimulación produce una respuesta inmune descontrolada que puede desencadenar enfermedades autoinmunes incluso shock séptico<sup>28</sup> y que polimorfismos genéticos de los TLR contribuye a la patogénesis de la enfermedad<sup>29, 30, 31</sup>.

En la respuesta inmune innata también hay que nombrar al receptor nuclear hepático X (LXR) que tiene actividad antiinflamatoria (posee capacidad de regulación de expresión génica de proteínas proinflamatorias) y favorece la supervivencia de los macrófagos frente a una infección bacteriana evitando la apoptosis (manteniendo la integridad y la función mitocondrial), es decir esta familia de receptores regula la magnitud, duración y características de la respuesta inmune<sup>32</sup>.

- Inmunidad específica o adquirida. Son los mecanismos de defensa inducidos del huésped por contacto con las sustancias extrañas. Son específicos y aumentan en magnitud y capacidad defensiva con cada exposición al agente patógeno. Las sustancias que inducen una inmunidad específica se denominan antígenos (Ag). La inmunidad específica se clasifica en dos tipos en función de los componentes que intervienen en la respuesta:

- ❑ Inmunidad humoral. Está mediada por moléculas circulantes en la sangre responsables del reconocimiento específico y de la eliminación de Ag denominados anticuerpos (Ac). Actúa sobre patógenos *extracelulares* (sobre todo bacterias encapsuladas). Los Ac son glucoproteínas complejas (inmunoglobulinas-Ig) producidos por los linfocitos B maduros, que se localizan en los líquidos orgánicos (IgG, IgM, IgE) o que se secretan a la superficie de las mucosas (IgA). Pueden actuar directamente, impidiendo la función del patógeno, neutralizando las toxinas y enzimas secretadas, o facilitando la eliminación del antígeno a través de células fagocíticas. Estimulan la función de citotoxicidad dependiente de Ac en determinados linfocitos T, favorecen el depósito de componentes del complemento sobre la superficie del patógeno (sistema del complemento-Co) y aumentan la fagocitosis por los neutrófilos y los fagocitos mononucleares sanguíneos. La actividad fagocítica de los macrófagos y leucocitos polimorfonucleares (PMN) es más eficaz cuando los patógenos son opsonizados previamente por el Co (por ejemplo, C3b) o por Ac o ambos.
  
- ❑ Inmunidad celular. Está mediada por linfocitos T, macrófagos y células citolíticas que reconocen y actúan sobre los patógenos con crecimiento *intracelular*. Los linfocitos T se activan por los macrófagos y por los linfocitos B, que le presentan los antígenos extraños junto al complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) del propio huésped. Las células T activadas tienen distintas acciones sobre el agente extraño, las células T citotóxicas pueden atacar directamente y lisar las células del propio huésped que presentan Ag extraños mientras que las células T helper estimulan la proliferación de células B y la producción de Ig. Las células T activadas también elaboran citocinas, que inhiben directamente el crecimiento de los patógenos o estimulan su destrucción por los macrófagos y las células citotóxicas del huésped, además de estimular la respuesta inflamatoria<sup>27</sup>.

### 1.3.2 Sistemas y moléculas que intervienen en la respuesta inmune

#### 1.3.2.1 Fiebre

Se entiende por fiebre la temperatura axilar mayor de 37° C pero se considera febrícula si esta temperatura no supera los 37,5° C. Es un síntoma muy frecuente y en España la primera causa de fiebre de origen desconocido (FOD) se debe a enfermedades infecciosas. Es muy inespecífica de manera que procesos banales pueden producir una fiebre muy alta (gripe) mientras que otros graves aumentan ligeramente la temperatura corporal (endocarditis, shock séptico), al mismo tiempo que la edad es un factor a tener en cuenta ante un paciente con fiebre. Así, en pacientes jóvenes la fiebre suele ser debido a infecciones víricas, en ancianos a infecciones bacterianas agudas y en la población pediátrica, más concretamente en niños menores de 3 años, puede ser de origen idiopático (20 %) y aunque muchos de los últimos padecen una enfermedad vírica benigna, tienen mayor riesgo de contraer una infección bacteriana grave.

Se produce debido a la presencia de sustancias denominadas pirógenos. La mayoría de los pirógenos exógenos (ajenos al huésped) son microorganismos, sus productos o sus toxinas. El más conocido es un grupo heterogéneo de moléculas que poseen todas las bacterias. Las Gram negativas poseen la endotoxina (LPS) y las Gram positivas el ácido lipoteicoico y PG de la pared celular. Estos actúan estimulando la célula del huésped (normalmente monocitos y macrófagos) para que sinteticen pirógenos endógenos (citocinas). Se sintetizan localmente o en todo el organismo, penetran en la circulación y producen fiebre actuando sobre el hipotálamo. Las citocinas productoras de fiebre son la IL-1 $\alpha$ , la IL1- $\beta$ , el TNF- $\alpha$ , el interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) y la IL-6<sup>33, 34, 35, 36</sup>.

#### 1.3.2.2 Sistema del complemento

Es un grupo de proteínas séricas termolábiles que actúan como una cascada cooperativa y autorregulada de enzimas que se adhieren y, en ocasiones, rompe la superficie del agente invasor. Son las responsables de funciones activas de la inmunidad humoral y de la inflamación.

Algunas de estas proteínas de adherencia superficial (C3b) pueden actuar como opsoninas para la destrucción del invasor por los fagocitos. Otros componentes del Co

(C7, C8, C9) tienen la capacidad de destruir directamente algunas bacterias, al formar un “complejo de ataque a la membrana” que rompe la integridad de la membrana bacteriana provocando la bacteriolisis. Mientras que otros, C5a fundamentalmente, C4a y C3a, actúan como sustancias químicas que atraen a los PMN, y en casos extremos provocan una reacción similar a la anafilaxia. Existen también otro tipo de proteínas del Co con capacidad de unirse a sustancias extrañas y solubilizarlas, con la finalidad de limitar el tamaño de las mismas y facilitar así su fagocitosis.

Además los receptores del Co localizados en la superficie de los linfocitos B (CD21 y CD35) amplifican la respuesta de los receptores antigénicos de la célula B, regulando así la respuesta inmune frente a un agente extraño y evitando la autoinmunidad<sup>37</sup>. La activación y el depósito del Co tiene lugar por dos vías: la vía clásica activada por complejos inmunitarios (Ac unidos a Ag), y la vía alternativa activada por componentes microbianos. Ambas vías convergen utilizando la misma proteína C3 que da lugar a los distintos componentes del Co y por tanto a sus diversas funciones<sup>38</sup>. Los fragmentos libres formados como resultado de la rotura de C3 y C5 son promotores de la respuesta inflamatoria, así el C3a estimula la liberación de granulocitos de la médula y el C5a actúa como quimiorreactante de monocitos, neutrófilos y eosinófilos aumentando la dilatación y la permeabilidad vascular y la producción de radicales libres del oxígeno. En grandes cantidades el C5a puede contribuir a la fisiopatología del shock séptico. Se ha descubierto recientemente una lectina fijadora de manosa (MBL, proteína sérica de la familia de las colectinas) que se une a la manosa de los carbohidratos de la superficie microbiana, y su activación es similar a la vía clásica del Co pero no requiere la presencia de Ac<sup>29</sup>.

### 1.3.2.3 Citocinas

Las citocinas son proteínas pequeñas no estructurales (polipéptidos o glicoproteínas) de un peso molecular pequeño (entre 8-40.000 daltons-D) sintetizadas por distintas células del huésped, especialmente monocitos, macrófagos y linfocitos T activados, de ahí que originalmente se les denominó “linfocinas” o “monocinas” en función de su origen. Actualmente se les denomina a todas citocinas, ya que prácticamente todas las células nucleadas del organismo son capaces de sintetizarlas. El gen que estimula su síntesis se activa ante acontecimientos nocivos, es decir no se almacenan, se sintetizan únicamente como respuesta a la inmunidad natural y



específica, motivo por el que el ARNm que las codifica suele ser inestable. Las citocinas comienzan su actividad uniéndose a receptores diana y muchas tienen efectos sobre la síntesis y actividad de otras. Inicialmente se pensó que eran hormonas, sin embargo, dadas las características del estímulo y del lugar de su síntesis se ha desechado esta teoría<sup>39</sup>.

Las funciones de las citocinas son muy diversas. Son reguladoras de la respuesta a la infección, respuesta inmune, inflamación y trauma, e intervienen como estimuladoras de la proliferación y diferenciación de linfocitos inmaduros y de la división celular de muchas de sus células diana<sup>40</sup>. Debido a esta diversidad de funciones muchas citocinas potencian la actividad de otras mientras que existen otras que las inhiben.

Se pueden clasificar en función de su actividad proinflamatoria o antiinflamatoria:

- Citocinas proinflamatorias son aquellas que promueven la inflamación. Por ejemplo, la IL-4 y la IL-13 son potentes activadores de los linfocitos B. Los genes de la fosfolipasa A<sub>2</sub> tipo II (PLA<sub>2</sub>), la ciclooxigenasa-2 (COX-2), el óxido nítrico sintasa inducible (iNOs) codifican enzimas que aumentan la síntesis de factor activador de plaquetas y los leucotrienos, los prostanoídes y el óxido nítrico (NO). La IL-1 y el TNF- $\alpha$  son inductores de moléculas endoteliales de adhesión, que son esenciales para la adhesión de leucocitos a la superficie endotelial y para la migración a los tejidos.
- Citocinas antiinflamatorias son aquellas que suprimen la actividad de las citocinas proinflamatorias bloqueando la cascada o disminuyendo la intensidad de su actividad. Por ejemplo, la IL-10, la IL-13 y el TNF- $\beta$  suprimen la producción de IL-1, TNF- $\alpha$ , quimiocinas y moléculas de adhesión vascular.

Debe de existir un equilibrio entre la síntesis de citocinas inflamatorias y proinflamatorias para el adecuado control de la respuesta inflamatoria.

Existen dos citocinas que por su importancia requieren especial mención, la IL-1 y el TNF- $\alpha$ :

- IL-1. El gen que codifica la síntesis de la familia de las IL-1 (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y receptor antagonista de IL-1) se localiza en el brazo corto del cromosoma 2<sup>41</sup>. La IL-1 $\alpha$  y IL-1 $\beta$  se unen al mismo receptor por lo tanto tienen actividades similares. Es capaz de producir fiebre, cefalea, mialgias y artralgias. Induce la expresión de genes de PLA<sub>2</sub> y COX-2, así como la activación y liberación de los mediadores derivados de los lípidos, como la prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), el tromboxano (Tx), el factor activador de plaquetas (PAF) y los leucotrienos. La PGE<sub>2</sub> produce vasodilatación periférica mientras que el Tx es vasoconstrictor y estimula la agregación plaquetaria. El PAF es un potente estimulador de la agregación y degranulación de los neutrófilos y favorece la agregación plaquetaria.

La IL-1 favorece también la migración de las células fagocitarias locales, la síntesis de la IL-6 y de la IL-8 que es un potente activador quimiotáctico de neutrófilos y monocitos y estimula la liberación de enzimas por los neutrófilos, potenciando el ataque contra el agente invasor. Estas citocinas actúan directa o indirectamente mediando la vasodilatación y la formación de moléculas adhesivas, estimulando linfocitos T y B y favoreciendo el poder destructivo de las células fagocitarias<sup>42</sup>.

Se han identificado dos receptores de unión de la IL-1, la IL-1Rs y la IL-1Ra, cuyos genes se localizan en el brazo largo del cromosoma 2 y están constituidos por tres dominios similares a la IgG. Los receptores de la IL-1 tipo I se localizan en todas las células de individuos sanos y se incrementan de dos a tres veces en el curso de una enfermedad, no así el gen que expresa la IL-1 $\beta$  que en condiciones normales no se expresa y

ante determinadas sustancias de microorganismos o inflamatorias aumenta hasta 100 veces<sup>43</sup>. Los Ac contra los receptores de la IL-1 bloquean la unión y la actividad de la misma. Se ha demostrado en estudios realizados en ratones que tras la administración de antagonistas de los receptores de la IL-1 se produce un control de la actividad de la IL-1, evitando así la respuesta exacerbada de la misma y por tanto el mal pronóstico de la enfermedad<sup>29,40,44</sup>.

- El TNF- $\alpha$ . El gen que codifica la síntesis se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 y posee múltiples polimorfismos que repercuten en el pronóstico de la infección<sup>41</sup>. El TNF se secreta a los pocos minutos tras la infección pero tras 3-4 horas los niveles de TNF séricos se vuelven indetectables<sup>45</sup>. Estimula la coagulación intravascular induciendo inicialmente la expresión del factor tisular (FT) por los monocitos y la síntesis de la IL-6. Cuando las células expresan el TNF- $\alpha$  se une al factor VIIa para formar un complejo activo que puede convertir los factores X y IX de coagulación en sus formas enzimáticamente activas y se produce una alteración en la funcionalidad de la vía proteína S-proteína C, a la vez que tiene lugar un aumento del nivel plasmático de inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno. En definitiva, existe una tendencia al acumulo intravascular de fibrina, a la trombosis y a la hemorragia. El TNF- $\alpha$  también estimula a las células del endotelio para producir y estimular la síntesis de citocinas, PAF, factor de relajación derivado del endotelio (NO) y otros mediadores. A diferencia de los receptores de la IL-1, los receptores del TNF (TNF p55 y TNF p75) son dímeros o trímeros, en los que el dominio citosólico del TNF p55 contiene el denominado “death domain” que conlleva una muerte celular programada. El TNF induce la apoptosis mientras que la IL-1 no, sin embargo ambos se unen estimulando el NO que media la muerte celular<sup>40</sup>.

Otras citocinas importantes son las siguientes:

- IL-6. El gen que codifica su síntesis se localiza en el cromosoma 7 y esta síntesis se produce tanto en células linfoides como no linfoides. Es una citocina multifuncional que se sintetiza de manera precoz frente a un daño y su concentración es proporcional a la severidad del mismo, complicaciones y mortalidad. Una de las características más importantes de la IL-6 es que induce la síntesis hepática de las proteínas de fase aguda y regula el crecimiento y desarrollo de células hematopoyéticas y embrionarias<sup>46</sup>. Es además un pirógeno muy importante<sup>47</sup>.

Se ha asociado a fallos hemorrágicos y está relacionada con la disfunción de la barrera intestinal tras shock hemorrágico. En el suero del recién nacido aparecen concentraciones más altas de lo habitual pero se normalizan a los pocos días y los niveles de la IL-6 en sangre de cordón aparecen aumentados en neonatos que desarrollan una sepsis neonatal precoz así como en neonatos con hemorragia intracraneal. Sin embargo, existen trabajos con resultados dispares en esta población debido quizá al desconocimiento de la cinética de dicha molécula en ese periodo<sup>48</sup>.

El receptor de la IL-6 tiene solamente un dominio intracitoplasmático y polimorfismos del mismo conllevan síntesis y funciones anormales de esta citocina. A pesar de que la síntesis de esta citocina es estimulada por la IL-1 y el TNF- $\alpha$ , la IL-6 permanece en plasma durante más tiempo que las anteriores, por tanto se podría utilizar como marcador de sepsis<sup>49</sup>.

- IL-10. Es una citocina antiinflamatoria que se sintetiza como un monómero de 18-20.000 D y que en los líquidos biológicos forma espontáneamente en homodímero. Su concentración plasmática está estrechamente relacionada con el TNF- $\alpha$ , con la gravedad de la infección y con el pronóstico de la misma. Inhibe la liberación de la IL-1, el TNF- $\alpha$ , la IL-8, los macrófagos y los monocitos<sup>50</sup>. Al igual que en otras

citocinas existen polimorfismos genéticos que repercuten en la evolución de la enfermedad<sup>51</sup>.

- IL-8. Es una citocina con actividad quimiotáctica sobre los neutrófilos acumulados en el lugar de la infección que activa la degranulación de los mismos causando daño tisular y parece ser que interviene en el proceso inflamatorio del paciente séptico<sup>39, 50</sup>. Existen distintos estudios que demuestran que un aumento de esta citocina tanto en plasma como en sangre de cordón permiten diagnosticar una sepsis neonatal precoz<sup>48</sup>.
- Proteína plasmática del grupo caja 1 (HMGB1). Es una proteína recientemente descubierta como mediadora tardía de sepsis. Originalmente se describió como una proteína fijadora de ADN nuclear pero aparece en el medio extracelular bajo la estimulación de macrófagos. Es una citocina proinflamatoria en estrecha relación con el TNF- $\alpha$  y por ser una mediadora tardía, quizá se pueda utilizar como tratamiento de la sepsis instaurada<sup>45</sup>.
- Factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF). Es una proteína recientemente descubierta que se localiza en la glándula pituitaria, en las células T y en los macrófagos y se sintetiza como respuesta al estrés y a la infección. El LPS induce la expresión de MIF en distintos tejidos y se secreta como respuesta al aumento fisiológico de los glucocorticoides. Se ha demostrado que niveles elevados de esta proteína conllevan un peor pronóstico de la enfermedad y el tratamiento con Ac frente a MIF mejora la supervivencia en ratones con shock séptico<sup>52</sup>.
- Receptor disparador expresado en células mieloides (TREM-1). Es un receptor que activa los neutrófilos, los monocitos y los macrófagos a través de la proteína DAP 12. Amplifica la actividad de los TRLs<sup>50</sup>.

#### 1.3.2.4 Quimiocinas

Son citocinas quimiotácticas, poseen la capacidad especial de estimular el movimiento dirigido de los leucocitos al lugar del daño (quimiocinesis y quimiotaxis). Existe una estrecha relación entre las citocinas (activadores endógenos de la respuesta inmune) y las quimiocinas que son mediadores secundarios. La síntesis de las quimiocinas se estimula por ligandos de los TLRs (por ejemplo: productos microbianos) y prácticamente todas las células del organismo son capaces de secretarlas bajo estímulos adecuados<sup>53</sup>. Su peso molecular oscila entre 8-17 kD y todas ellas contienen dos puentes disulfuro en su estructura.

Los puentes disulfuro y su función es lo que se utiliza para clasificarla en cuatro familias. La familia CC que posee dos residuos de cisteína juntos localizados en el extremo amino terminal. Se producen principalmente en la célula T activada y actúan principalmente sobre células mononucleares. Las más conocidas son la quimiocina RANTES (CCL5) y la proteína quimiotáctica del monocito-1 (MCP-1, también llamada CCL-2). La C que está formada por un único componente linfotactina (XCL1) y solo tiene un residuo de cisteína. La CXC cuyos residuos de cisteína están separados por un aminoácido en el extremo amino terminal. Se producen principalmente en los fagocitos mononucleares, células tisulares y megacariocitos y actúan principalmente sobre los neutrófilos. El más conocido es la IL-8 (CXCL8). Y la CX<sub>3</sub>C cuyo único componente, la fractalcina (CX<sub>3</sub>CL1), es un quimiorreactante soluble.

Muchas están especializadas en la defensa de la piel y del tracto gastrointestinal contra patógenos, formando parte de la respuesta inmune natural<sup>54</sup>.

Los receptores a los que se unen las quimiocinas pertenecen a la familia de receptores 7 hélice- $\alpha$  transmembrana acoplados a proteína G, que son receptores de múltiples sustancias como hormonas, neurotransmisores, mediadores inflamatorios...<sup>40</sup>. Actualmente se conocen 5 receptores de la familia CXC (CXCR1-CXCR5), 9 de la familia de CC (CCR1-CCR9), 1 de la familia CX<sub>3</sub>C (CX<sub>3</sub>CR1) y 1 de C (XCR1). Las IL actúan sobre la vida media del ARNm que codifica estos receptores para aumentar o disminuir la actividad de las quimiocinas. Así, la IL-10 aumenta la vida media del CCR1 y CCR2 mientras que el TNF disminuye la expresión de receptores de la IL-8 en

los neutrófilos. Requiere especial importancia el CCR8 debido a que es un potente quimioatrayante de los monocitos e inhibe la apoptosis<sup>55</sup>.

La modulación de la actividad de las quimiocinas tiene lugar por múltiples mecanismos, pueden potenciar o inactivarse por distintas proteasas, heparán sulfato o proteoglicanos.

La especificidad de la respuesta celular depende en gran medida de las quimiocinas específicas liberadas por el tejido, las moléculas de adhesión vascular expresadas en ese tejido, los receptores expresados en los leucocitos del tejido y las moléculas de adhesión específicas expresadas en los leucocitos<sup>28</sup>.

Es importante destacar que son tan importantes las quimiocinas en si mismas como sus receptores dado que la regulación de su actividad se realiza a través de los mismos<sup>56</sup>.

#### 1.3.2.5 Hemostasia

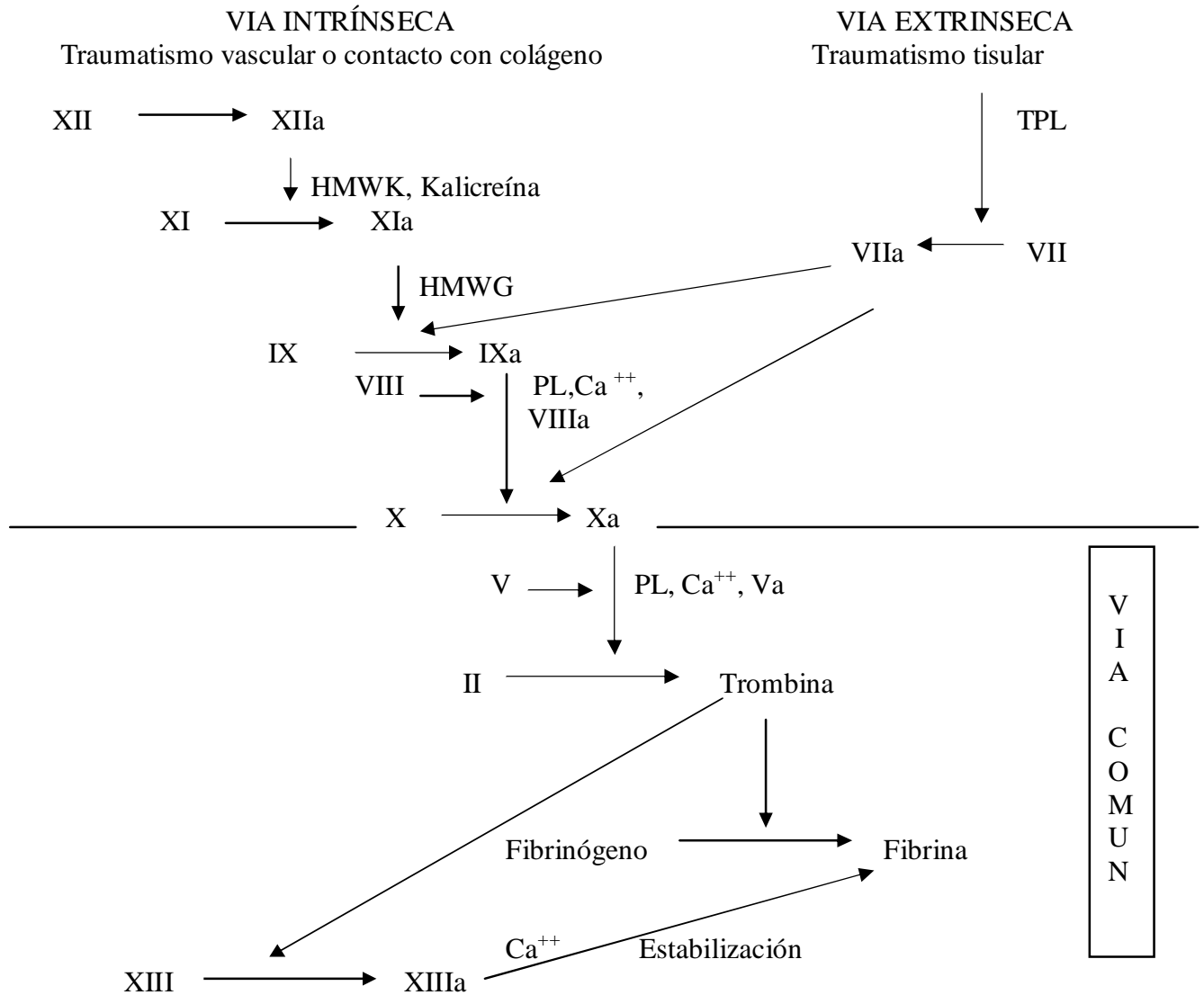
Se define hemostasia como el conjunto de mecanismos que tienen la finalidad de evitar la pérdida de sangre al exterior del sistema vascular. Se compone de las siguientes fases: espasmo vascular, formación de trombo plaquetario en la superficie vascular, coagulación y organización y disolución del coágulo (fibrinólisis).

El trombo plaquetario es la superficie física sobre la que se forma la fibrina que comienza cuando las plaquetas entran en contacto con estructuras del subendotelio a través de un mecanismo de contracción celular dependiente de calcio, y contribuyen a la actividad de las vías de coagulación plasmática.

La coagulación plasmática tiene como objetivo la formación de coágulo de fibrina que es la transformación de fibrinógeno, proteína plasmática soluble, en fibrina, insoluble en plasma, por la acción de la trombina. La trombina es una enzima proteolítica que se forma a partir de la protrombina por activación de la coagulación plasmática, y promueve tanto la transformación del fibrinógeno en fibrina como la estabilización del coágulo. La síntesis de trombina tiene lugar a través de una serie de

reacciones en cadena en la que intervienen múltiples factores de coagulación en las denominadas vías de coagulación (extrínseca e intrínseca). Figura 1.

Figura 1. Cascada de las vías de coagulación



HMWG: Kininógeno de alto peso molecular

PL: Fosfolípido plaquetario

TPL: Tromboplastina tisular



Actualmente se considera el inicio de la coagulación en dos fases consecutivas, una fase de iniciación que genera FT en la superficie de los monocitos y por la vía extrínseca forma una pequeña cantidad de trombina que activa las plaquetas circulantes y una fase de amplificación que acelera los mecanismos de la vía intrínseca sobre la superficie de las plaquetas activadas.

El sistema proteína C-proteína S es el de mayor importancia en la regulación de la síntesis de trombina. Está formado por la proteína S y la proteína C (PC) que circulan en el plasma, por la trombomodulina que se localiza en la superficie de las células endoteliales y por el receptor endotelial de la proteína C (EPCR). La PC es una serinproteasa dependiente de vitamina K que se sintetiza en el hígado y circula en plasma en forma inactiva. Se activa tras la unión de la trombina con la trombomodulina en presencia del EPCR. In vivo la activación de la PC es 20 veces superior cuando es presentada por el EPCR. Este complejo transforma la PC (vida media 10 horas) a proteína C activada (PCA) (vida media 20 minutos) mediando la proteína S como cofactor. Una baja expresión del EPCR en el periodo neonatal puede contribuir al defecto de la actividad inflamatoria/anticoagulante de este periodo<sup>57</sup>.

La PCA disminuye la actividad del inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno y otros inhibidores de la fibrinólisis con un efecto red aumentando la degradación del coágulo. El inhibidor del FT (TFPI) es una serinproteasa que se sintetiza en el endotelio y se localiza en plasma unido a lipoproteínas, asociado a plaquetas y células endoteliales, y tiene la capacidad de unirse e inhibir directamente el factor Xa. Diversos trabajos han demostrado que la administración de TFPI recombinante bloquea la inflamación e induce la generación de trombina en humanos, así como su capacidad de prevenir la mortalidad, aunque se desconoce el mecanismo.

Debe de existir un equilibrio entre la coagulación y los sistemas fisiológicos anticoagulantes para mantener la homeostasis del organismo y evitar el desarrollo de trombosis.

Cuando existe una lesión se genera el FT que se expresa en la superficie de las células endoteliales dañadas, en el subendotelio y en la superficie de los monocitos, de manera que la cascada de coagulación comienza por la exposición de la sangre al FT

derivado de tejidos extracelulares tras el daño de la pared celular. Existen mediadores inflamatorios como el LPS bacteriano, el PG bacteriano, la IL-1, el TNF- $\alpha$ , la membrana plaquetaria, la PCR, el C5a que inducen la síntesis del FT en monocitos y su expresión está regulada por varios factores de transcripción como el NF- $\kappa$ B/Rel proteínas y EGR-1. Los neutrófilos también expresan FT a través de un mecanismo aún desconocido y son capaces de sintetizarlo *de novo*. El FT dependiente de monocitos está aumentado en los pacientes que padecen una coagulación intravascular diseminada (CID) y se ha demostrado que Ac con actividad inhibitoria sobre el FT disminuye la mortalidad de los pacientes afectados. Existe un Ag de FT que se mide en plasma aunque se ha asumido que tiene su actividad enmascarada.

La sepsis desencadena una actividad del endotelio vascular, y como consecuencia de la misma se inicia una actividad proinflamatoria y procoagulante que causan el daño tisular. Así, el endotelio vascular posee una función crucial en la patología del paciente séptico, dado que interviene en el control de la inflamación, coagulación, regulación del flujo sanguíneo (tono vascular), y en la migración celular a la zona afectada. La inflamación que se genera ante un tejido dañado, activa la cascada de la coagulación y los mecanismos necesarios para producir un depósito de fibrina con la finalidad de reparar dicho tejido, incluso puede que tenga también la función de limitar la propagación del agente patógeno. Además en la sepsis existe una depleción de anticoagulantes fisiológicos, como la antitrombina III (AT-III), la PCA, el TFPI, al mismo tiempo que tiene lugar un desorden en la fibrinólisis, todos ellos mecanismos que conducen a un estado procoagulante.

Durante la sepsis tienen lugar reacciones cruzadas de retroalimentación e integración entre los sistemas de inflamación y coagulación, de manera que ambos sistemas se deben observar de forma interdependiente, ya que la inhibición de un proceso puede conllevar a la inhibición del otro y viceversa. Por ejemplo, las células endoteliales y los monocitos son estimulados por gran cantidad de marcadores inflamatorios como la PCR, la IL-1, la IL-6, el TNF- $\alpha$  para producir el FT que lleva a un aumento de la síntesis de trombina, imprescindible para la formación de coágulo y para desencadenar la inflamación.

Todo ello hace pensar que las relaciones intrínsecas entre inflamación y coagulación son de gran importancia en la patogénesis del fallo microvascular y por tanto del fracaso multiorgánico en la infección severa ya que los cambios vasculares que acompañan la respuesta sistémica frente a la infección (vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar, aumento de las células de adhesión y activación de la coagulación) puede desencadenar que la coagulopatía generada durante el transcurso de la sepsis provoque una isquemia tisular y el consiguiente fallo multiorgánico.

En la patogénesis de las alteraciones de la coagulación durante la sepsis están implicados los siguientes mecanismos:

- El FT que lleva a generación de trombina, a la transformación de fibrinógeno a fibrina y a la activación plaquetaria.
- Deterioro de los mecanismos anticoagulantes fisiológicos como el sistema AT, sistema PC y TFPI.
- El inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno disminuye la actividad del sistema fibrinolítico.
- Alteración de las propiedades reológicas de las células rojas llevando a la obstrucción del sistema microvascular que provoca isquemia tisular<sup>51</sup>.

Las sustancias propias del sistema de coagulación como el FT, la PCA, la trombina y el sistema fibrinolítico tienen actividad sobre el sistema inflamatorio, de manera que van a influir ampliamente en la fisiopatología del paciente séptico. Así, el fibrinógeno y la fibrina influyen directamente en la producción de citocinas proinflamatorias y quimiocinas y parece ser que esta actividad está mediada por el receptor TRL-4, que es también receptor de la endotoxina<sup>58</sup>. La trombina induce la expresión de células de adhesión (neutrófilos y monocitos) y producción de citocinas (IL-1 e IL-8) en las células endoteliales.

Las citocinas proinflamatorias y quimiocinas, principales mediadoras inductoras de la inflamación, son también inductoras de la coagulación, debido a que poseen actividad sobre los mecanismos y proteasas activadas de la coagulación, sobre anticoagulantes fisiológicos o componentes del sistema plasminógeno-plasmina, modulan receptores celulares específicos de la inflamación, concluyendo en un estado

procoagulante que provoca un depósito de fibrina intravascular y una microagregación o microtrombos de plaquetas, neutrófilos, hematíes y fibrina que pueden obstruir los capilares pequeños provocando una isquemia tisular y disfunción orgánica. Así, la IL-6 activa la coagulación y el TNF- $\alpha$  y la IL-1 juegan un papel importante como anticoagulantes fisiológicos.

Otro de los mecanismos principales a través de los que la coagulación modula la inflamación es mediante la unión a receptores activados de proteasas (PARs). Existen 4 tipos de estos receptores que pertenecen a la super familia de dominios transmembrana unidos a proteína G. PAR-1, PAR-3 y PAR-4 son receptores de trombina y PAR-1 también sirve como receptor del complejo factor tisular-factor VIIa y factor Xa. Además se ha observado que la activación de la trombina por PAR-1 induce la expresión de citocinas proinflamatorias y quimiocinas in vitro que contribuye a la inflamación en la glomerulonefritis<sup>59</sup>. Unidos a estos receptores pueden inducir la producción de citocinas y factores de crecimiento, así como aumentar la respuesta inflamatoria sistémica aumentando la migración de neutrófilos y la expresión de citocinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$  y IL-1 $\beta$ )<sup>60</sup>.

El FT posee el papel central del inicio de la inflamación que induce coagulación. La expresión in vivo de FT parece ser que depende principalmente de la IL-6, así en la sepsis severa las células mononucleares estimuladas por citocinas proinflamatorias expresan FT que desencadena una activación de la coagulación (incluso en dosis bajas de endotoxemia se han detectado un aumento de ARNm de FT de hasta 125 veces)<sup>61</sup>. Otra fuente importante del FT son las células endoteliales y los leucocitos PMN. Las plaquetas se pueden activar directamente por la endotoxina o por mediadores proinflamatorios, la unión de plaquetas activadas a los neutrófilos y células mononucleares provoca la activación del NF- $\kappa$ B que conduce a la expresión de FT en los monocitos.

La disfunción endotelial que ocurre durante la inflamación tiene más repercusión en el sistema C debido a que bloquea la conversión de fibrinógeno en fibrina e inhibe la unión de la trombina a otros receptores celulares en las plaquetas y en las células inflamatorias, y a que la PCA inhibe la producción de la IL-1 $\beta$ , el TNF- $\alpha$ , la IL-6 y la IL-8. Se ha observado varios niveles de actividad de la PCA, así se ha descrito que su

unión a los EPCR afecta a la expresión genética de las citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión inhibiendo el flujo de calcio de la célula y bloqueando NF- $\kappa$ B, y que su capacidad de inhibir la apoptosis de la célula endotelial está mediada por el EPCR y por el PAR-1. Hay que añadir que el EPCR tiene propiedades antiinflamatorias *per se*. La inactivación de la PCA se lleva a cabo por inhibidores de serin proteasas ( $\alpha_1$ -antitripsina, inhibidor de la PC y  $\alpha_2$ -macroglobulina). Durante la inflamación el sistema de la PC es deficiente debido a la disminución de la trombomodulina de la superficie endotelial mediado por citocinas como el TNF- $\alpha$  y la IL-1 $\beta$ , y además este bloqueo del sistema C conlleva un aumento de la morbi-mortalidad por aumento de fracaso multiorgánico<sup>62</sup>.

El hecho de que la concentración de PCA sea mayor en los pacientes que sobreviven ha creado el objetivo de convertir PC endógena a PCA, debido a que si aumenta la capacidad anticoagulante de la PCA, que es capaz de inhibir el inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno, aumenta la actividad antiapoptótica de las células (actividad antiinflamatoria indirecta de la PCA). Además la PCA también posee una actividad antiinflamatoria directa al atenuar los efectos del TNF- $\alpha$  sobre las células endoteliales vía activación del NF $\kappa$ B, al disminuir la producción de citocinas proinflamatorias como la IL-1 y la IL-6, y previniendo la activación de neutrófilos vía PAR-1. La unión de la PCA a EPCR parece ser esencial para comenzar el efecto antiapoptótico mediado por PAR-1<sup>63</sup>. Hay que tener en cuenta que la actividad de la PCA difiere en los distintos tejidos debido a la distribución diferente de receptores, vías de señal intracelular y sensibilidad de las células a estímulos inflamatorios<sup>64</sup>. Se ha observado en un estudio con cultivos celulares que la proteína S libre puede fomentar la fagocitosis de las células apoptóticas pero este proceso apoptótico se inhibe por la presencia del complejo proteína S- C4BP<sup>65</sup>.

Los reguladores del plasminógeno durante la inflamación son el TNF- $\alpha$  y la IL-1 $\beta$ . La presencia de estas sustancias en la circulación conlleva una liberación de activadores del plasminógeno y más concretamente activador del plasminógeno tipo tisular y tipo urocinasa (uPA). El efecto sobre la fibrinólisis es una inhibición completa y por tanto una inadecuada renovación de la fibrina que contribuye a la trombosis microvascular. La unión de proteasas de la coagulación (trombina o FT) o proteínas anticoagulantes (PCA) a receptores específicos de las células mononucleares o

endoteliales afectan a la producción de citocinas y a la apoptosis de células inflamatorias. Este cruce de sistemas es fundamental en muchos estados de la enfermedad incluyendo distintas manifestaciones de enfermedad vascular y el SRIS llevando a una disfunción orgánica y mortalidad por sepsis. AT disminuye la concentración de la IL-6 además de inhibir la coagulación<sup>66</sup>.

En el paciente séptico meningocócico se ha observado que desordenes genéticos de la PC, proteína S, AT o la presencia de factor V Leiden no contribuye a empeorar la severidad del curso de la enfermedad, sin embargo, altas concentraciones plasmáticas del inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno se ha asociado a un peor pronóstico de la sepsis en estos pacientes<sup>67, 68</sup>.

El papel de los leucocitos en la hipercoagulabilidad de sepsis está descrito por Schwartzman como dos estados de reacción a la exposición de una endotoxina. El primer encuentro con la endotoxina produce fibrina que se elimina en el sistema retículo endotelial mientras que el segundo produce necrosis tisular y/o hemorragia<sup>69</sup>.

En definitiva, existe una interrelación clara entre los sistemas de coagulación e inflamación según demuestran múltiples estudios y se ha observado que la coagulación posee un papel fundamental en la evolución y pronóstico de un paciente séptico, hecho que genera que los tratamientos actuales se centren en sustancias y factores que intervienen en este proceso para mejorar la morbi-mortalidad de estos pacientes<sup>70</sup>. Se han propuesto anticoagulantes como PCA, TFPI y AT como tratamiento en el control del paciente séptico para disminuir el estado inflamatorio y de coagulación del mismo. Incluso se está incluyendo la curcumina en los modelos de sepsis severa debido a su actividad anticoagulante y a su interacción con los efectos del TNF- $\alpha$ , aunque actualmente solo se ha demostrado la eficacia de la PCA para disminuir la disfunción multiorgánica y evitar la muerte de paciente séptico<sup>71, 72</sup>.

### 1.3.2.6 Sistema hematopoyético

El sistema hematopoyético del organismo humano está formado por tres series celulares denominadas serie roja, serie blanca y serie plaquetar.

- La serie roja está formada por los hematíes cuya cifra de normalidad oscila entre  $5,5 \times 10^6/\mu\text{L}$  en el varón y  $4,8 \times 10^6/\mu\text{L}$  en la mujer. Sin embargo, para establecer el estado anémico o de poliglobulia en un individuo es necesario valorar estas cifras junto con la concentración de hemoglobina en sangre del mismo. Durante una infección y/o inflamación se van a producir cambios reológicos de las células y como consecuencia de los mismos disminuirá la deformabilidad de los hematíes y aumentará la agregación celular<sup>73</sup>.
- La serie blanca está formada por los leucocitos, y estos a su vez se dividen: PMN (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y mononucleados (linfocitos y monocitos). La sangre actúa como vehículo de los leucocitos desde la médula ósea (lugar de producción) hasta los tejidos donde actúan. El sistema hematopoyético del organismo además de producir la cantidad de leucocitos necesaria para realizar las funciones fisiológicas (proceden de una célula progenitora común) mantiene una reserva celular en la médula ósea que puede ser movilizada en la inflamación o en la infección, y su maduración se regula a través de los factores estimuladores de colonias y de las IL. Existen pruebas que demuestran que los monocitos de la sangre humana y los macrófagos tisulares producen factores estimuladores de colonias (sustancias hormonales para el crecimiento de los monocitos y los neutrófilos en la médula ósea).

Los neutrófilos son los leucocitos más abundantes en la sangre y su cifra de normalidad oscila de  $2,5\text{-}7,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ . Son leucocitos de tiempo de vida media corta (12-14 horas), redondeados y su tamaño varía de 12-14  $\mu\text{m}$ . Tienen el núcleo segmentado en tres o cuatro lóbulos unidos por finos puentes cromatínicos. Se desconoce la función fisiológica del núcleo multilobulado pero parece ser que esta característica confiere a la célula una mayor deformación durante el proceso de diapedesis. En

ocasiones y fundamentalmente en el sexo femenino el núcleo posee un pequeño apéndice correspondiente a la cromatina sexual que se denomina palillo de tambor o “drumstick”. El citoplasma de los neutrófilos posee una granulación primaria y secundaria que contienen mieloperoxidasa y lactoferrina respectivamente, y por tanto dichas enzimas se utilizan como marcadores de granulopoyesis. Presentan también vesículas secretoras que contienen fosfatasa alcalina granulocítica, citocromo b y el Ag CD-11b.

Su función es fagocitar y destruir agentes patógenos a través de sustancias bactericidas como radicales del oxígeno y nitrógeno, de manera que son los leucocitos predominantes durante la primera fase de la respuesta inflamatoria y juega un papel importante en la acumulación de otro tipo de leucocitos. La médula ósea regula la liberación de los neutrófilos a la sangre periférica y su producción, y se ha observado que ante estímulos de infección las formas inmaduras aumentan en la médula ósea a las 4 horas de dicho estímulo y las formas maduras a las 24 horas (enterotoxina B *staphylococica*)<sup>74</sup>.

Los neutrófilos son atraídos hacia el lugar de la inflamación por sustancias quimiotropas (C5a) y se ha observado que un defecto de la migración de los mismos al foco de infección se asocia a una sepsis severa debido a una incapacidad de aclaramiento de la bacteria, permitiendo la diseminación de la misma y por tanto un aumento de la mortalidad del paciente. Parece ser que el responsable de este deterioro de la migración de los neutrófilos al foco inflamatorio, junto con un aumento de localización de neutrófilos en el pulmón causando un daño agudo pulmonar, son los TLR4 quizá debido a que sus polimorfismos humanos alteran la respuesta inflamatoria en el paciente séptico<sup>75</sup>.

Mediado por citocinas, expresa moléculas de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) en las células endoteliales, que poseen receptores (selectinas, como el CD-62 o ELAM-1)<sup>76</sup>. Más tarde, como respuesta a citocinas inflamatorias (TNF- $\alpha$  e IL-1), los PMN se unen a las moléculas de



adhesión a través de sus integrinas  $\beta_2$ , facilitando así su diapedésis al compartimiento extravascular. Cuando los neutrófilos se localizan en este compartimiento diversas moléculas acentúan el proceso inflamatorio, por ejemplo los ácidos araquidónicos.

Recientemente se ha descubierto la expresión de EPCR en la superficie de neutrófilos y eosinófilos, demostrando la modulación de la PCA en la migración de neutrófilos al foco de infección, así como la actividad de los mismos influyendo en su unión al endotelio suprimiendo la expresión de moléculas de adhesión VCAM-1 y en la liberación de enzimas bactericidas de los neutrófilos (elastasa, mieloperoxidasa) en respuesta a estímulos mecánicos, térmicos y químicos<sup>77,78</sup>.

La unión de los neutrófilos al endotelio vascular tiene lugar a través de dos familias de moléculas de adhesión, las selectinas (CD62L) que interactúa con oligosacáridos del endotelio y las integrinas ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ), heterodímeros que se adhieren firmemente al endotelio. La unión de los neutrófilos a las bacterias para opsonizarlas tiene lugar a través del receptor CD-64 del neutrófilo que se une fuertemente a la IgG que recubre la bacteria y que se expresa fundamentalmente en los neutrófilos activados, este hecho hace que se proponga este receptor como parámetro de laboratorio en un paciente séptico obteniendo resultados tan óptimos como una sensibilidad del 87,6 % y una especificidad del 71,2 %. El CD-64 es estable durante 36 horas a temperatura ambiente en sangre anticoagulada y no existe una correlación entre PMN y PMN-CD-64. Sin embargo, presenta varios inconvenientes como el que se presenta aumentado en aquellos pacientes que están recibiendo tratamiento con factores estimuladores de colonias o interferon, la técnica actual es compleja y de coste elevado por tanto no es practicable su realización en un laboratorio de urgencias de forma rutinaria<sup>79,80,81</sup>.

Dado que en la inflamación existe una migración de neutrófilos al foco inflamatorio tiene lugar una alteración tanto cualitativa como cuantitativa de estas células hemáticas, es decir en estos procesos se puede producir

una neutrofilia (aumento del número de neutrófilos) debido a un aumento de la producción y movilización de estas células de la médula ósea por distintos estímulos (citocinas), aunque también es posible observar una neutropenia (disminución del número de neutrófilos) en pacientes infecciosos con linfocitosis. De hecho la cifra de neutrófilos en valor absoluto (N#) se utiliza como indicador de infección, incluso algunos autores indican que en una meningitis neumocócica la cifra de leucocitos en líquido cefalorraquídeo menor de  $1,0 \times 10^3/\mu\text{L}$  podría indicar la presencia de bacteriemia con complicaciones sistémicas<sup>82</sup>.

Respecto a la alteración cualitativa de los neutrófilos es normal la presencia de células inmaduras en sangre periférica (desviación izquierda), como los cayados y los metamielocitos (células inmaduras de mayor tamaño que poseen el puente cromatínico del núcleo más ancho de lo normal), debido a la liberación de células por la médula ósea estimulada por las citocinas, así como gránulos citoplasmáticos (cuerpos de Dohle) que probablemente sean fragmentos del retículo endoplasmático rugoso o grandes vacuolas que posiblemente sean fragmentos de membrana internalizados en los neutrófilos.

La presencia de células inmaduras, y por tanto células de mayor tamaño, con células maduras en sangre periférica, unido a los avances tecnológicos de los analizadores de hematología, capaces de expresar el volumen de distribución neutrofílica ha hecho pensar a algunos investigadores en este parámetro como marcador de septicemia, ya que es independiente del número de neutrófilos y presenta una sensibilidad del 69 % y una especificidad del 100 %, si bien son necesarios más estudios para discernir entre una reacción leucemoide sin infección de una infección propiamente dicha<sup>83</sup>.

De uso más antiguo y extendido es la observación al microscopio de una extensión de sangre periférica, en la que se destaque la presencia y el tipo de células inmaduras así como su porcentaje. Algunos autores apuntan hacia esta prueba como una herramienta útil de diagnóstico, incluso

existen modelos multivariantes que permiten realizar un diagnóstico diferencial. Así, uno de los modelos presentado que incluye el N#, presencia de cayados y células granulocíticas inmaduras (índice de inmadurez) muestra una curva ROC para el diagnóstico de infección bacteriana de 89 %, frente al modelo que incluye el N# y presencia de cayados y el que incluye solamente el N#, con un AUC ROC de 0,86 y 0,78 respectivamente. Es importante tener en cuenta que la observación de una extensión de sangre periférica requiere personal especializado y tiene diversos inconvenientes como son variaciones interobservador (imprecisión) y variaciones debidas a la distribución no homogénea de los leucocitos en la extensión<sup>84, 85</sup>.

Los recién nacidos poseen una movilidad alterada de sus células fagocíticas, quizá debido a una disminución de su deformabilidad pero este hecho debe de incluirse en la inmadurez propia de esta población<sup>76, 86, 87</sup>. La integridad vascular puede ser dañada por las enzimas de los neutrófilos (como la elastasa) y por los metabolitos tóxicos del oxígeno, hasta producir hemorragias locales, a la vez que muchos estudios apuntan al NO producido por la iNOs como mediador del shock séptico en los animales de experimentación y probablemente en el hombre, que como consecuencia provocan una oclusión de los capilares, isquemia tisular y disfunción multiorgánica<sup>51</sup>.

- Las plaquetas son fragmentos del citoplasma de los megacariocitos. Son anucleadas, de forma discoide, con un volumen comprendido entre 7-11 fL que permanecen en sangre periférica durante 8-12 días hasta su destrucción en el bazo. Se observan dos zonas claramente delimitadas, cromómero localizada en el centro y que posee los gránulos azurófilos, y hialómero que corresponde a la zona periférica e incolora. Se diferencian los gránulos- $\alpha$ , que contienen factor plaquetario 4 (factor de crecimiento de fibroblastos), fibrinógeno, factor V y factor VII (von Willebrand), albúmina y otras proteínas, y los cuerpos densos, que contienen calcio, serotonina, adenosindifosfato (ADP) y adenosintrifosfato (ATP). Las plaquetas poseen gran cantidad de enzimas como la fosfatasa ácida,  $\beta$ -

glucuronidasa, arilsufatasa, N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa, aunque el marcador más específico de las mismas es la peroxidasa<sup>76</sup>. Los hematíes contribuyen a la adhesión de plaquetas para la formación del trombo debido a que su mayor número, mayor tamaño y capacidad de deformación hace que ocupen el centro de la luz vascular desplazando las plaquetas hacia las paredes.

De manera que ante un proceso infeccioso y/o inflamatorio se produce una activación y un aumento del número de plaquetas en sangre periférica, sin embargo existen casos descritos de bacteriemia en los que la cifra aumentada de plaquetas proporcionada por el analizador está falseada debido a la presencia de la bacteria en sangre periférica<sup>88</sup>.

No obstante, la determinación de parámetros hematológicos, así como la observación de una extensión de sangre periférica por un observador cualificado no permite discernir entre una reacción de fase aguda sin infección y un proceso infeccioso propiamente dicho.

Como consecuencia de las modificaciones hematológicas y bioquímicas la VSG se incrementa. Su valor normal en la primera hora oscila es de 15 mm en el hombre y 20 mm en la mujer. El aumento de VSG está en relación directa con la rapidez con la que los hematíes se agregan y sedimentan y depende de varios factores: disminución del volumen corpuscular medio (VCM) y número de hematíes, así como de su forma, aumento de fibrinógeno y ciertas globulinas plasmáticas. Aumenta en infecciones agudas y crónicas, procesos inflamatorios, neoplasias y enfermedades hematológicas. Las anemias también provocan un aumento de VSG mientras que al poliglobulias las disminuyen. Sin embargo, es una magnitud muy inespecífica, que se debe de valorar con cautela sobre todo en los ancianos que tiende a aumentar sin que exista enfermedad. Fisiológicamente las únicas situaciones en las que aumenta son la menstruación y el embarazo.

A pesar de la inespecificidad de este parámetro ningún individuo puede considerarse sano si tiene la VSG extremadamente alta, y será necesario buscar la causa de dicho aumento. Por el contrario, la normalidad de este parámetro no excluye la

posible existencia de enfermedad. La VSG es útil en el control evolutivo de la enfermedad, de manera que mientras esté alterada se considera que el proceso no ha revertido en su totalidad.

#### 1.3.2.7 Proteínas de fase aguda

Las proteínas plasmáticas se sintetizan fundamentalmente en el hígado excepto las Ig y las hormonas. Las citocinas que se producen durante la inflamación actúan sobre el hepatocito modulando la síntesis de algunas proteínas, las proteínas de fase aguda. Tras su síntesis se liberan al espacio de Disse y a través de los sinusoides hepáticos alcanzan las venas hepáticas y la circulación periférica. Estos movimientos de proteínas tienen lugar por difusión pasiva, transporte activo, pinocitosis y exocitosis. Se define como proteína de fase aguda aquella cuya concentración en plasma se modifica en un 25 % o más de su concentración normal por acción de las citocinas sobre el hepatocito, en los siete días siguientes al inicio del daño tisular.

La proteína de fase aguda ideal es aquella que responde de una manera rápida y con gran variación en su concentración plasmática tras comenzar el proceso inflamatorio, no se altera por otros síndromes clínicos diferentes a la inflamación, retorna a sus niveles basales cuando cesa el estímulo inflamatorio y su concentración en plasma puede medirse de manera rápida y precisa.

Estas proteínas se clasifican en:

- Positivas las que aumentan su síntesis como consecuencia del proceso inflamatorio. Por ejemplo, PCR, PCT, sustancia A amiloide, fibrinógeno, haptoglobina,  $\alpha_1$ - glicoproteína ácida, C3, C4.
- Negativas las que su síntesis está inhibida. Por ejemplo, albúmina, prealbúmina, transferrina, proteína transportadora del retinol.

Se postula que la síntesis disminuida de las proteínas de fase aguda (negativas) es debido a que dichas proteínas no tienen actividad como respuesta a un estímulo nocivo externo y el organismo desvía los aminoácidos que las forman en la síntesis de

las proteínas de fase aguda positiva, ya que parece ser que tienen una función protectora.

Una característica de las proteínas de fase aguda es, que aunque todas ellas modifican su concentración como respuesta a un estímulo inflamatorio, no todas ellas lo hacen de una manera uniforme ni en concentración ni en tiempo, así por ejemplo la PCR puede llegar a aumentar su concentración hasta un 30.000 % de su nivel basal en las primeras 24 horas y permanecer aumentada durante 5 días tras el estímulo mientras que la haptoglobina se eleva en un 200 % a los 5 días desde el comienzo del estímulo y permanece aumentada hasta 15 días.

A pesar de que los cambios en las concentraciones de estas proteínas no contribuyen a identificar el agente etiológico, se postula que la monitorización de las mismas informan del estado inflamatorio del paciente, así como de la respuesta al tratamiento debido a que la concentración plasmática es proporcional a la extensión de la inflamación<sup>89, 90, 91</sup>.

## 1.4 Proteínas de fase aguda utilizadas en el diagnóstico de infección

### 1.4.1 Proteína C reactiva

Una de las proteínas de fase aguda positiva más utilizada en la práctica clínica habitual es la PCR<sup>92</sup>. Esta proteína se descubrió por primera vez en 1930 en el laboratorio de Oswald Avery al estudiar pacientes infectados con *Streptococcus pneumoniae* debido a que el suero de estos pacientes en los primeros estadios de la enfermedad contenía una proteína capaz de precipitar el polisacárido C de la pared celular del neumococo. Volakanis y Kaplan cuarenta años más tarde identificaron que el receptor de la PCR era la fosfatidilcolina, componente del ácido teicoico de la pared celular del neumococo.

La PCR circulante está formada por un pentámero de cinco polipéptidos no glicosilados iguales de 21 kD (206 aminoácidos) cada uno, que se disponen simétricamente alrededor de un poro central adquiriendo un peso molecular total de

118.000 D. Pertenece a la familia de las pentraxinas y se sospecha que los residuos fenilalanina-66 y glicina-81 juegan un papel muy importante en su unión con la fosfocolina.

El gen que codifica la PCR se localiza en el brazo corto del cromosoma 1 y la síntesis en los hepatocitos está regulada principalmente a nivel transcripcional a través de la IL-6 y la IL-1 $\beta$ . Se sintetiza fundamentalmente en hígado pero también se ha descrito una síntesis extrahepática de PCR en neuronas, placa de ateroma, monocitos y linfocitos.

La PCR se une a las fosfocolinas que se localizan en múltiples bacterias y es un constituyente de la esfingomielina y fosfatidilcolina de las membranas eucarióticas, sin embargo estos puntos de unión solo son accesibles para la PCR en células dañadas y apoptóticas. Se conocen dos tipos de receptores de la PCR, los receptores estimuladores (ITAM), y los receptores inhibidores (ITIM)<sup>93, 94</sup>.

En voluntarios sanos jóvenes la media de la concentración sérica de la PCR es de 0,8 mg/L, pero en fase aguda, ya sea por infección y/o inflamación puede aumentar 500 e incluso hasta 1.000 veces su valor basal. Tras un estímulo adecuado el nivel de la PCR aumenta rápidamente en 6 horas, alcanzando su pico máximo a las 48 horas. El tiempo de vida media de la PCR es de 48 horas y su síntesis bajo las mismas condiciones de enfermedad es continua. Así, cuando el estímulo cesa su síntesis también cesa su concentración sérica disminuye rápidamente. Sus valores normales tienden a aumentar ligeramente con la edad debido posiblemente a patologías subclínicas. Existe un nivel basal hereditario y pese a que no existen cambios estacionales o diurnos se ha descrito una variabilidad intra e interindividual de 45 % y 65 % respectivamente, así como existen estudios en los que se demuestra una disminución gradual de los niveles basales de PCR en mujeres blancas americanas, americanas hispanas y asioamericanas, diferencias que no se observan en los hombres de esas mismas razas. Las estatinas, el ejercicio físico y el consumo moderado de alcohol disminuyen la PCR basal<sup>95</sup>.

Se ha observado que la PCR tiene actividad tanto antiinflamatoria, al inducir la expresión del antagonista del receptor de la IL-1, aumentar la liberación de la IL-10 e

inhibir la síntesis del IFN- $\gamma$ , como proinflamatoria, al activar el Co, aumentar la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales (ICAM-1, VCAM-1, E-selectina), inhibir la expresión endotelial de la iNOs en las células endoteliales aórticas, estimular la liberación de la IL-8, aumentar la expresión y actividad del inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno, y aumentar la liberación de la IL-1, la IL-6, la IL-18 y el TNF- $\alpha$ . Como consecuencia de estas actividades contrapuestas se postula que la PCR actúa en los sistemas de defensa del organismo mientras que inhibe los efectos nocivos de una reacción inflamatoria exacerbada<sup>96</sup>.

La PCR constituye la primera línea de defensa del organismo debido a que activa la vía clásica del Co a nivel del C1-C4 con escasa activación de las C5-C9. Este hecho puede ser debido a que la activación del Co no se produce por un complejo Ag-Ac si no que parece ser que interactúa con el factor H que conlleva una formación de C5 convertasas, estimulando la fagocitosis y uniéndose a receptores de Ig.

Recientemente se ha estudiado el papel de la PCR en la formación de la placa de ateroma y parece ser que tiene lugar a través de distintos mecanismos. Uno de ellos es que la PCR es capaz de inhibir la adrenomodulina, otro de los mecanismos parece ser que induce la metaloproteinasa-1 (MMP-1), al aumentar la síntesis de la IL-8 y disminuir la supervivencia de la célula endotelial progenitora, diferenciación y función de la misma vía NO. Además la PCR es quimiotáctica para los monocitos y se une a los neutrófilos y a la fosfocolina de la LDL-colesterol, facilita la captación de LDL por los macrófagos e induce disfunción endotelial al aumentar la expresión de las moléculas de adhesión y del inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno, así como la actividad del último. Todos ellos junto con la activación del Co son factores implicados en la formación de la placa de ateroma. Derivada de esta actividad se ha establecido que cuando la concentración de PCR es mayor de 2 mg/L existe un mayor riesgo arteriosclerótico y se propone el tratamiento con estatinas para disminuir la concentración de PCR y su monitorización como control de la formación de la placa de ateroma<sup>97</sup>.

Intimamente relacionado con la formación de placa de ateroma, se ha postulado que un ligero incremento de PCR aumenta el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular, síndrome metabólico y cáncer de colon, e incluso en el diagnóstico y



monitorización de enfermedades inflamatorias crónicas como son la artritis reumatoide y la enfermedad inflamatoria intestinal<sup>98</sup>.

Sin embargo, la utilidad clásica y más extendida de la PCR es como marcador de infección bacteriana y sepsis. Algunos autores presentan a la PCR como un marcador de infección pero no con una determinación aislada si no mediante una monitorización de la misma, que permita conocer el comienzo de la infección así como la idoneidad del tratamiento, y demuestran que con un punto de corte de 8,7 mg/L de nivel sérico de PCR y con una variación de más de 4,1 mg/L respecto del valor previo presenta una AUC de 0,86, una sensibilidad del 92,1 % y una especificidad de 71,4 % de padecer una infección mientras que si aumentamos el incremento de la PCR a 5 mg/L se obtiene una sensibilidad del 81,6 % y especificidad del 89,3 %<sup>99</sup>.

A nivel pediátrico el problema se agrava para poder establecer las causas bacterianas versus no bacterianas en niños con fiebre (mayor de 39° C) sin foco conocido, fundamentalmente en niños menores de 36 meses. Pese a que el *gold standard* es el cultivo microbiológico no es una herramienta útil en el momento inicial debido a que puede tardar varios días. Este hecho genera el uso del conteo total de leucocitos (WBC) como marcador de infección, pero se demuestra que estableciendo un punto de corte mayor o igual de 15.000 se administra tratamiento antibiótico entre un 85-95 % más de lo necesario. También se tiene en cuenta el N# y aunque es más fiable se obtienen resultados similares al conteo de los WBC en el tratamiento antibiótico posterior. Así, se demuestra que la AUC de la PCR fue 0,905 frente a 0,805 de N# y 0,761 de WBC, y que con niveles de PCR menores de 5 mg/L se obtiene un valor predictivo negativo (VPN) del 98 % y mayor de 9 mg/L el valor predictivo positivo (VPP) es de 67 %. Es decir, la PCR es más sensible y específica que el N# y los WBC, a pesar de que depende de la duración de la fiebre (superior a 12 horas)<sup>100, 101</sup>.

Las infecciones de vías respiratorias bajas son muy frecuentes en nuestro medio e incluyen bronquitis aguda y neumonía. El problema reside en diferenciar estas patologías en base a la historia clínica y a la exploración física del paciente puesto que el cuadro clínico de neumonía no es específico, sobre todo en los ancianos, y que el tratamiento varía en función de la enfermedad, es decir se prescribirá antibiótico solamente en la neumonía bacteriana. Las infecciones bacterianas son poco frecuentes

como responsables de las infecciones de las vías respiratorias bajas y más del 70 % de estas infecciones se tratan con antibióticos pese a que la mayoría de ellas están causadas por virus debido a que la diferencia entre infecciones víricas de bacterianas no está clara, que solo en un 3-5 % de los niños con neumonía el cultivo es positivo y que establecer el diagnóstico en base a la radiografía es complicado. Además la presencia o no de una imagen de condensación depende de la interpretación del observador, de la duración de la enfermedad y la relación entre colonización bacteriana y patogénesis del tracto respiratorio inferior no siempre se puede establecer<sup>102</sup>.

En los países escandinavos y en Suiza está muy extendido el uso de la PCR para la detección de infección de vías respiratorias. Así, establecen que en las víricas la PCR alcanza el pico máximo a los 2-4 días y su valor no suele exceder los 8 mg/L, aunque también se detectan valores elevados (hasta de 10-50 mg/L) en infecciones víricas, fundamentalmente en las causadas por virus influenza y adenovirus aunque rara vez excede los 100 mg/L. Tras cuatro días de enfermedad los niveles de PCR disminuyen rápidamente y a los diez días su concentración es menor de 10 mg/L a no ser que exista una sobreinfección bacteriana. En la neumonía por *S.pneumoniae* la PCR es más específica que el quejido (característico de la población infantil) o la temperatura y los valores mayores de 50 mg/L son indicativos de la enfermedad, pese a que estas cifras también se alcanzan en el infarto de miocardio y en el embolismo pulmonar y que en los primeros estadios de la enfermedad una concentración de PCR menor de 10 mg/L no excluye el diagnóstico de neumococo. Así, basándose en la presencia de condensación en la radiografía de tórax como criterio diagnóstico de neumonía por *S.pneumoniae* la PCR presenta un AUC de 0,80. Algunos autores indican que el nivel de PCR es capaz de diferenciar entre sinusitis, neumonía por *S.pneumoniae*, bronquitis aguda y resfriado común en un 30 % de los casos y por tanto una reducción de la pauta antibiótica en este porcentaje, sin embargo concluyen que el nivel de PCR no se debería utilizar como marcador definitivo del tratamiento antibiótico, ni en el inicio ni en la suspensión<sup>103</sup>.

Con todo actualmente se recomienda el uso de la PCR en el laboratorio de urgencias, debido a que se determina por un procedimiento inmunoquímico automatizado (fácilmente reproducible, medible y estandarizable), y por tanto disponible las 24 horas. Además no requiere ayuno para su determinación, es una proteína estable tres días a temperatura ambiente y siete días a 4° C y presenta

concentraciones similares en plasma de heparina de litio y suero, pero algo más bajos en plasma con EDTA, quizá por el efecto osmótico del EDTA como anticoagulante. También se ha descrito un efecto prozona con concentraciones mayores de 510 mg/L. En los últimos años se ha mejorado el método analítico de la PCR determinándose la PCR de alta sensibilidad (hs-PCR) que extiende la aplicación clínica de este parámetro<sup>104</sup>, e incluso se ha incluido dentro de los parámetros susceptibles de ser medidos en la cabecera del paciente. Sin embargo, la PCR en sí misma no debe utilizarse como herramienta única de diagnóstico si no que debe ser considerada junto a otros datos clínicos y de laboratorio<sup>105</sup>.

#### 1.4.2 Procalcitonina

En los últimos años se han realizado múltiples estudios en los que se demuestra que existe un aumento de la concentración de la PCT en la sangre de los pacientes sépticos, y que podría detectar de una manera más sensible, específica y precoz la existencia de infección bacteriana y fúngica, discernir una reacción de rechazo de un órgano y reacción sistémica frente a infección, e incluso diferenciar la etiología bacteriana o vírica de la misma<sup>106, 107, 108</sup>. Además parece ser que esta proteína posee un gran valor pronóstico, debido a que en estos pacientes se correlaciona con la severidad de la infección, con una posible disfunción multiorgánica y mortalidad, así como la monitorización de la PCT es un indicador de la bondad del tratamiento y de la evolución del paciente<sup>109, 110, 111</sup>. Es importante destacar que existen múltiples estudios en los que se ha demostrado su utilidad tanto en la población adulta como en la pediátrica<sup>112, 113, 114</sup>.

La PCT es el propéptido de la hormona calcitonina (CT) que en condiciones normales se sintetiza en las células C del tiroides y que tiene actividad calcitonina-like. Se sintetiza a partir de la preprocalcitonina, que por una secuencia señal sufre un corte por una endopeptidasa específica en el extremo amino terminal, dando lugar a la PCT. Es una glicoproteína plasmática de 116 aminoácidos con una masa molecular de 13-14 kD. Tras la síntesis de la PCT, una proteasa específica la fracciona en tres fragmentos: la calcitonina inmadura de 32 aminoácidos (zona intermedia: 60-91), un fragmento amino-terminal de 57 aminoácidos (1-57) y un fragmento carboxilo-terminal, es la

denominada carboxipeptidasa-I (también llamado katacalcina) de 21 aminoácidos (96-116). Durante un proceso postranslacional la PCT sufre distintos cortes por enzimas convertasas (proteasas) liberando así los tres fragmentos anteriormente citados. Una vez liberada la CT inmadura pierde un aminoácido, se amida en el extremo carboxilo terminal dando así lugar a la calcitonina biológicamente activa. La región aminoterminal es hidrofóbica y constituye el péptido señal de unión al retículo endoplasmático y la PCT es el resultado de la unión proteolítica del péptido señal en el retículo endoplasmático<sup>115, 116</sup>.

La calcitonina se codifica en el brazo corto del cromosoma 11 por el gen CAL-I. Este gen contiene 6 exones separados por 5 intrones y mide 8 kilobases (kb) de una secuencia genómica, aproximadamente 2 kb secuencian el gen promotor de la calcitonina. El promotor del gen CAL-I se expresa para factores de transcripción basal como Sp-1 o proteínas de unión TATA-BOX y para factores inducidos en condiciones inflamatorias como NF- $\kappa$ B y AP-1. Además, en la posición 488-492 se localiza el llamado elemento correspondiente (CREB) de monofosfato adenosina cíclico (AMPc), de manera que la transcripción del CAL-I está marcadamente aumentada por el AMPc y la respuesta del gen al AMPc requiere la acción de múltiples elementos reguladores. La codificación del gen CAL-I da lugar a dos transcripciones distintas producidas por un *splicing* alternativo. La primera deriva de los exones 1 al 4 y codifica PCT, mientras que la segunda es un *splicing* entre los exones 1, 2, 3, 5 y 6 y codifica el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Este péptido es un neuropéptido de 37 aminoácidos con propiedades inmunosupresoras y que se sintetiza fundamentalmente en los nervios sensoriales. Parece ser que tanto la PCT como el CGRP actúan como *feed back* negativo para limitar la síntesis del TNF- $\alpha$  inducido por el LPS y limitar la respuesta inflamatoria sistémica exacerbada<sup>117, 118</sup>.

En condiciones normales la procalcitonina sufre un corte proteolítico a nivel del retículo endoplasmático que da lugar a la calcitonina inmadura, sin embargo en procesos infecciosos este corte no tiene lugar, y conlleva un aumento de los precursores de la calcitonina. En sujetos sanos la concentración de PCT sérica es indetectable mientras que se eleva marcadamente (mayor de 100 ng/mL) en distintas situaciones. Es interesante destacar que la sobreproducción de esta glicoproteína durante estos procesos patológicos tiene lugar en tejidos extratiroideos y no conlleva un aumento de la

calcitonina ni del calcio en el suero. Esto apunta a que las células que sintetizan PCT en estas condiciones carecen del enzima proteolítico que da lugar a la calcitonina madura. En algunos paciente graves es frecuente encontrar una hipocalcemia que es inversamente proporcional a la concentración de PCT pero se ha demostrado que la concentración disminuida de calcio no es debido a la concentración de PCT y se piensa que es por la respuesta inflamatoria en si misma<sup>119, 120</sup>.

El origen de la PCT en estas circunstancias patológicas es incierto. Unos autores barajan la hipótesis de que se sintetiza en el hígado, estudios experimentales de incubación de células hepáticas con el TNF- $\alpha$  y la IL-6 producen un incremento de la PCT, de manera que es posible que el tejido hepático isquémico *per se* promueva la liberación de la PCT<sup>121, 122</sup>. Otros estudios han encontrado que el LPS bacteriano es capaz de inducir el RNAm de la PCT y estimular la síntesis intracelular de la misma en cultivos de células mononucleares de sangre periférica<sup>123, 124</sup>, aunque también se conocen trabajos en los que no se ha encontrado dicha actividad en los leucocitos mononucleares y se ha observado un aumento de PCT en pacientes leucopénicos<sup>125</sup>. Paralelamente otros autores proponen las células neuroendocrinas del pulmón como lugar de producción, ya que se ha detectado PCT en homogenados de células DMS 53 y DMS 79 (líneas celulares derivadas de carcinoma de pulmón de células pequeñas)<sup>126</sup>. Parece cierto que su síntesis no se produce en la glándula tiroidea bajo condiciones sépticas, ya que se ha comprobado que esta proteína está aumentada en pacientes tiroidectomizados y la expresión del gen CAL-I en las células de múltiples tejidos (plasma, hígado, pulmón, páncreas...) <sup>127, 128</sup>.

Se ha demostrado que tras la inyección de endotoxina los niveles de PCT se elevan y que la vida de los animales de experimentación aumenta tras la inyección de anticuerpos antiPCT, y que cuando se administra a ratones sanos estos no desarrollan sepsis, de manera que la PCT es además de marcador un mediador en la reacción inflamatoria sistémica sin ser activador de dicha reacción<sup>129, 130</sup>. Sin embargo se desconoce su papel en la cascada de la reacción inflamatoria y su relación con la citocinas, pero se ha demostrado que la PCT no modula la síntesis de las citocinas, de la misma forma que no incrementa la expresión de receptores inflamatorios (CD-14, CD-64, CD-80...) en la superficie celular, hechos que apuntan a la nula o escasa participación de la PCT en la respuesta primaria a la infección. Además confirman esta

afirmación el hecho que el aumento de la PCT siempre está precedido por un aumento de la IL-1 $\beta$  y del TNF- $\alpha$ , y que la administración de PCT en animales de experimentación sanos no se acompaña de un aumento de la mortalidad, debido posiblemente a la incapacidad de activar la cascada inflamatoria<sup>131, 132, 133</sup>. De todas formas parecer ser que la PCT disminuye la síntesis de NO en una primera fase, es decir la concentración de PCT que aumentaría a las 2 horas del comienzo del estímulo en una primera fase influiría en la expresión del gen de la iNOs inhibiendo la síntesis de NO (normalmente a las diez horas del comienzo del estímulo) y mejorando así la hipotensión severa que acompaña a la sepsis y al shock séptico, mientras que cuando se alcanza una concentración de PCT muy elevada (mayor de 1.000 ng/mL) esta inhibición no tiene lugar, proponiendo un comportamiento bifásico de la PCT respecto al NO. También se ha observado una inhibición de la síntesis del Tx y del ácido araquidónico inducido por PG<sup>134, 135</sup>.

Se cree que la PCT que aumenta en suero en los procesos infecciosos no es la PCT de 116 aminoácidos sino que es la denominada “forma truncada” de la misma. Esta molécula carece del dipéptido alanina-prolina inicial en el extremo amino terminal, y parece ser que el enzima responsable de este corte es la dipeptidil peptidasa IV (DP-IV). Este enzima es una glicoproteína de 110 aminoácidos que cataliza la liberación de dipéptidos en el extremo amino-terminal y de oligopéptidos y polipéptidos preferentemente que contienen prolina, hidroxiprolina, y con menor eficacia los que contienen alanina en la penúltima posición. Es un tipo de enzima de membrana que tiene un dominio catalítico orientado extracelularmente con alta especificidad y que se localiza en células endoteliales y epiteliales (sobre todo en riñón, hígado e intestino), células hematopoyéticas (células T, células B y NK activadas) y disuelto en plasma (es idéntica al marcador CD-26 de activación de células T)<sup>136</sup>. En los pacientes sépticos también aumenta el péptido amino terminal de la PCT, que se correlaciona con los niveles de PCT y permanece más tiempo aumentado debido a que su vida media es más larga, además su método de determinación tiene alta sensibilidad<sup>137</sup>.

Existe una discrepancia respecto a qué es lo que estimula el aumento de PCT en pacientes infectados. Unos autores apuestan por el LPS de la bacteria como estimulador de la expresión del RNAm de la PCT, que a su vez es un potente activador de la DP-IV y de las células B, T y NK, al igual que la fitohemaglutinina y varias citocinas

proinflamatorias (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-2)<sup>138</sup>. Mientras que otros piensan en la endotoxina bacteriana como factor desencadenante del aumento de PCT en estos pacientes. Incluso se piensa que las citocinas en sí mismas son capaces de liberar PCT en ausencia de endotoxina<sup>139</sup>.

Otras características importantes de la PCT es su aumento significativo precoz (a las 2-6 horas del comienzo del estímulo) alcanzando la concentración máxima a las 12 horas, su corto tiempo de vida media de 25-30 horas, se elimina por hemodiálisis, su gran estabilidad incluso a temperatura ambiente (soporta congelaciones-descongelaciones sucesivas), su especificidad y su sensibilidad para el diagnóstico de infección bacteriana<sup>140, 141, 142</sup>.

Existen varios métodos de determinación de la PCT, semicuantitativo (inmunocromatográfico) y cuantitativo (inmunoluminometría y time-resolved amplified cryptate emisión-TRACE), todos ellos son métodos sencillos, existe una buena correlación y en los que no se han descrito casos de interferencia con hemólisis, bilirrubinemia y/o lipemia, solamente para sueros de alta turbidez se recomienda utilizar el método TRACE, debido a que corrige el ratio de las intensidades a la longitud de onda de medición. Tampoco se han descrito casos de interferencias medicamentosas como agentes quimioterapéuticos, fármacos vasoactivos, analgésicos, anticoagulantes o diuréticos, sin embargo medicamentos que provoquen una liberación exhaustiva de citocinas podría aumentar los niveles de PCT<sup>143, 144, 145</sup>. Es importante destacar que no existen diferencias significativas entre la concentración de sangre arterial de la PCT respecto de la concentración en sangre venosa (4,10 % mayor en la primera), y tampoco entre su determinación sérica o plasmática. La mayor diferencia reside en el uso de la heparina de litio como anticoagulante (mayor en un 7,60 % respecto del suero), que no se observa en otros como el citrato (menor en un 4,05 % respecto del suero), etilendiamino tetraacético (EDTA) (mayor en un 0,33 % respecto del suero) o fluoruro sódico (mayor en un 4,38 % respecto del suero)<sup>146</sup>.

La PCT aumenta con niveles de calcitonina elevados en el carcinoma medular de tiroides, en el carcinoma pulmonar de células pequeñas, y en otros carcinomas como el de ovario, mama, islotes pancreáticos...<sup>147</sup>

Sin embargo la PCT sérica aumenta manteniendo los niveles basales de calcitonina en distintas situaciones de elevada relevancia clínica como son las siguientes:

- Los pacientes con una enfermedad autoinmune son susceptibles de contraer una infección debido a la propia enfermedad que padecen y al tratamiento que reciben y en muchas ocasiones es difícil discernir entre un brote de la enfermedad y una infección. Existen múltiples estudios en los que se valoran distintos marcadores como la PCT, la PCR, la neopterina y la IL-6 en pacientes con lupus eritematoso sistémico y con Ac citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) asociados a vasculitis sin infección y con infección bacteriana y se obtienen resultados con una sensibilidad de 100 % y una especificidad del 84 % de la PCT frente a una especificidad de la neopterina, la IL-6 y la PCR de menos del 15 %. Además en la PCR existe un solapamiento de valores entre pacientes infectados y paciente no infectados en un brote de la enfermedad de base que no se observa en la PCT<sup>148</sup>. Este solapamiento puede ser debido a que la PCR no es específica de infección, es decir aumenta también en la inflamación, sin embargo la PCT se sintetiza exclusivamente como respuesta al estímulo del LPS bacteriano o de la endotoxina. Pese a todo se propone como punto de corte para pacientes con ANCA 1 ng/mL en vez de 0,5 ng/mL y es importante destacar que la PCT no sirve para detectar una infección vírica en este tipo de pacientes<sup>149, 150</sup>, incluso se han descrito casos clínicos en los que los valores de la PCT están dentro de la normalidad con infección fúngica demostrada microbiológicamente<sup>151</sup>.

En base a la presencia de fiebre en pacientes con enfermedad autoinmune sistémica para diferenciar pacientes infectados frente no infectados se obtiene un valor medio de la PCT de 1,11 ng/mL versus 0,24 ng/mL con una sensibilidad de 75 % y una especificidad del 75 % frente a la PCR, WBC y VSG en las que no se observan diferencias significativas entre ambos grupos. Sin embargo, se observa un aumento de los valores de la PCT en pacientes adultos no infectados que debutan con una enfermedad de Still<sup>152</sup>.



Estos resultados se extrapolan también a la población pediátrica. Así existen estudios en los que los valores de PCT de pacientes con enfermedad autoinmune permanecen dentro del rango de normalidad ( $0,4 \pm 0,4$  ng/mL) al igual que pacientes con infección viral ( $0,4 \pm 0,3$  ng/mL), aunque se ha observado un ligero aumento en pacientes afectados con enfermedad de Kawasaki en fase aguda ( $2,3 \pm 3,0$  ng/mL). Este aumento puede ser debido a que a pesar de ser una enfermedad infecciosa se produce una respuesta inmune anómala frente al agente infeccioso y parece ser que existe un componente autoinmune en la patogénesis, es más estos autores establecen un punto de corte de PCT de 3 ng/mL como predictor de padecer aneurisma coronario<sup>153, 154</sup>. Mientras que otros autores proponen al igual que en la población adulta un ligero aumento del punto de corte de la PCT ( $2,6 \pm 1,1$  ng/mL) en pacientes afectados de una enfermedad autoinmune<sup>155</sup>.

- En pacientes quemados las complicaciones más frecuentes son una respuesta inflamatoria sistémica y una depresión de la inmunidad celular y las causas más comunes de mortalidad son un fallo respiratorio y la infección. La concentración de PCT en la fase aguda está fuera de los rangos de normalidad y no existen diferencias significativas entre los pacientes sépticos y los no sépticos, sin embargo, los niveles de PCT disminuyen en los pacientes no infectados, así como en los que reciben un tratamiento adecuado, mientras que en otros marcadores de infección no existen diferencias significativas hasta el día 12-15, como la PCR, los WBC o la temperatura<sup>156</sup>. A pesar que existen estudios realizados en población pediátrica en los que la PCR o el conteo de plaquetas son capaces de detectar un sepsis precoz en quemados<sup>157</sup>. Otra utilidad de la PCT en este grupo de pacientes es que los niveles de PCT se correlacionan con la superficie quemada durante la primera semana, con la evolución, el pronóstico y la probabilidad de supervivencia del paciente<sup>158, 159</sup>.
- La pancreatitis aguda se define como un proceso inflamatorio agudo del páncreas que afecta a los tejidos adyacentes y en la que existe una respuesta sistémica. Se describen aproximadamente unos 30 casos cada 100.000 habitantes al año con una mortalidad entre el 10-15 %, y de los que evolucionan a una pancreatitis aguda necrotizante entre el 20-30 % es de origen infeccioso<sup>160</sup>. En lo

que se refiere al diagnóstico se presenta la amilasa como el mejor marcador bioquímico. Sin embargo al valorar el marcador de severidad y del pronóstico (necrotizante o no) de la enfermedad, unos autores presentan a la PCR como la más específica, barata y fácil de medir cuando se realiza la prueba a las 48 horas del inicio de los síntomas, presentando un AUC de 0,92, una sensibilidad del 60,9 % y una especificidad del 89,1 % con un punto de corte mayor de 200 mg/L frente a la PCT de 0,79, 21,7 % y 83,2 % respectivamente, y a la IL-8 con una AUC de 0,52 (punto de corte 112 pg/mL) y la amiloide-A sérica con una sensibilidad del 76,8 % y una especificidad del 69,3 %<sup>161, 162, 163</sup>. Mientras que otros autores describen a la PCT o a la IL-6 como mejor marcador de estos aspectos presentando la PCT una sensibilidad del 92 %, una especificidad del 84 % con un punto de corte de 3 ng/mL a las 24 horas del comienzo de los síntomas. Es más, si se realiza una combinación de IL-6 < 400 ng/mL y PCT < 2 ng/mL se obtiene una sensibilidad del 75 % y una especificidad del 84 % para el diagnóstico de pancreatitis aguda necrotizante no infectada<sup>164, 165</sup>.

Respecto a infecciones y complicaciones posteriores (fallo respiratorio y/o renal) los trabajos apuntan como mejor marcador a la PCT realizada esta prueba a las 12-24 horas de la admisión con AUC de 0,95, una sensibilidad del 86 %, una especificidad del 89 %<sup>166, 167, 168, 169</sup>.

- La determinación de PCT no permite diagnosticar una apendicitis en el niño (sensibilidad 28 % y especificidad 88 %) pero si es un indicador de la gravedad de las lesiones inflamatorias así como de complicaciones posteriores tras apendicitis<sup>170</sup>.
- Algunos autores defienden que el diagnóstico y la evolución de la peritonitis bacteriana están estrechamente relacionados con los niveles de PCT ya que estableciendo un punto de corte de 0,75 ng/mL se obtiene una sensibilidad del 95 % y una especificidad del 98 % en comparación con la PCR y el N# en los que se obtiene una sensibilidad del 62 % y 57 % y una especificidad de 92 % y 90 % respectivamente<sup>171, 172</sup>. Mientras que otros autores obtienen mayor sensibilidad con la PCR, y a pesar que observan un solapamiento de los niveles

de PCR sugieren que puede ser debido a la ausencia de respuesta inflamatoria sistémica<sup>173, 174</sup>.

- En pacientes con infección por *Plasmodium falciparum* en la fase inicial de la enfermedad la concentración de PCT se correlaciona con la parasitemia y por tanto con la severidad de la enfermedad, a la vez que una monitorización de los niveles de PCT en estos pacientes permite supervisar la evolución del mismo y la bondad del tratamiento. Sin embargo, también se ha observado unos niveles de PCT propios de infección por malaria falciparum en pacientes afectados de *Plasmodium vivax* o *Plasmodium ovale* que no se corresponden con la severidad de la enfermedad y se desconoce el por qué<sup>175, 176, 177</sup>.
- En pacientes sometidos a un injerto se produce un daño de tejidos que aumenta los reactantes de fase aguda. Algunos estudios han destacado que tras un injerto (trasplantes, válvulas cardíacas, by-pass...) se produce un incremento de los reactantes de fase aguda incluido la PCT<sup>178</sup>. Sin embargo el descenso precoz de la PCT en ausencia de infección, debido a su corta vida media, permitiría diferenciar un rechazo del órgano de una infección a diferencia del resto de proteínas de fase aguda, así utilizando un punto de corte de 1 ng/mL para la PCT y 150 mg/L para la PCR se obtiene una sensibilidad y especificidad del 85 % y 95 %, respectivamente *versus* 64 % y 84 %, presentando la PCT un AUC de 0,82 y la PCR de 0,68. En estos pacientes se puede utilizar el nivel de PCT como marcador pronóstico (rechazo del órgano, complicaciones posteriores e incluso mortalidad) con una sensibilidad del 85 % y una especificidad del 58 % con un punto de corte de 0,7 ng/mL que aumenta al 100 % si elevamos el nivel de PCT a 7,7 ng/mL<sup>179, 180, 181, 182</sup>.

Algunos estudios no obtienen resultados tan satisfactorios como los anteriores pero si presentan a la PCT con mayor bondad que la PCR (punto de corte para la PCT mayor de 2 ng/mL tiene una sensibilidad 50 % y una especificidad 95,8 % frente a la PCR mayor de 10 mg/L tiene un 87,5 % y un 32,9 %, respectivamente)<sup>183, 184, 185, 186, 187</sup>.

Sin embargo, también existen estudios en los que afirman que la PCT no es capaz de discernir entre una reacción inflamatoria no infectada de una infectada<sup>188</sup> o que existen otros marcadores más específicos y precoces para diagnosticar un SIRS no infeccioso tras una operación cardiaca, así el NT-BNP describe una AUC de 0,799 antes del comienzo de la operación frente a 0,408 de la PCT<sup>189, 190</sup>.

En estos pacientes que tras cirugía cardiaca evolucionan con fiebre muy alta y no presentan bacteriemia es importante diferenciar el shock cardiogénico del shock séptico. Se cree que se debe a una alteración de la permeabilidad intestinal que causa una traslocación bacteriana intestinal, una liberación de endotoxina y una activación de la respuesta inmune, y se presenta a la PCT como posible marcador precoz de diferencia con una sensibilidad de 100 % y una especificidad de 62 %<sup>191, 192, 193</sup>.

Estos resultados se extrapolan a la población pediátrica cuyas concentraciones retornan a rangos de normalidad en unos días tras la operación cardiaca en ausencia de complicaciones y barajan la presencia de un “doble pico” de la PCT como valor predictivo de posibles infecciones o fallo multiorgánico con una sensibilidad del 100 % una especificidad del 95 % y una AUC de 1 utilizando un punto de corte de 5 ng/mL, a diferencia de la PCR que no es capaz de discernir un fallo multiorgánico y/o infección de manera precoz. Incluso algunos autores demuestran unos valores normales de PCT a las 48 horas de la operación frente a las 72 horas de la PCR<sup>194, 195, 196, 197</sup>.

- En pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) la concentración basal de PCT es similar a sujetos sanos y sus niveles aumentan cuando existe una sobreinfección de origen bacteriano y no en otras infecciones frecuentes en este tipo de pacientes como son la toxoplasmosis, infecciones fúngicas, tuberculosis o citomegalovirus (CMV), además la monitorización de la PCT permite conocer la bondad del tratamiento<sup>198</sup>. Existen estudios en los que se ha encontrado una concentración de PCT aumentada en pacientes VIH positivos con tuberculosis pero estableciendo un punto de corte de 3 ng/mL es capaz de diferenciar una neumonía de una tuberculosis con una sensibilidad del 81,8 %,

una especificidad de 82,4 % y una AUC de 0,87 frente a la PCR (punto de corte 246 mg/L) de 78,8 %, 82,3 % y 0,85 respectivamente. Además se piensa que el aumento de PCT en estos pacientes es indicativo de la progresión de la infección por el VIH y de la severidad de la infección contraída<sup>199</sup>.

- En pacientes oncológicos tras tratamiento con quimioterapia es frecuente la aparición de fiebre pero en ocasiones es difícil conocer la causa de la misma, ya que puede ser debido a una infección o a la administración de medicamentos o hemoderivados. Es importante destacar que estos pacientes debido al tratamiento suelen padecer neutropenia, por tanto un marcador precoz de infección disminuiría la morbi/mortalidad de complicaciones posteriores, evitando antibioterapia innecesaria. Así, unos autores obtienen una AUC de 0,92 en la PCT para diferenciar bacteremia de otras infecciones frente a la PCR y la IL-8 que no son discriminantes. Además desde el primer día de la aparición de la fiebre existe una diferencia entre la concentración de la PCT de un paciente con bacteriemia (media 12,37 ng/mL) y la de un paciente con una infección localizada (media 1,29 ng/mL)<sup>200, 201</sup>, de manera que aparece como un marcador independiente del estado inmune y del conteo de leucocitos<sup>202</sup>.

Sin embargo, otros autores presentan a la PCT como un marcador muy específico (100 %) pero poco sensible (60 %) para discernir entre una FOD y pacientes infectados, mientras que en la PCR no existen diferencias significativas entre ambos grupos y los valores para la IL-8 y la IL-6 son menores<sup>203, 204, 205, 206</sup>. Al extrapolar esta problemática a la población pediátrica unos autores defienden también a la PCT más específica pero menos sensible que la PCR (sensibilidad 33,3 % y especificidad 90,7 % para la PCT y 66,7 %, 46,3 %, respectivamente para la PCR)<sup>207</sup>, mientras que otros la presentan como poco específica en este ámbito<sup>208</sup>.

- La meningitis es una enfermedad en la que es importante realizar un diagnóstico precoz para comenzar un tratamiento adecuado y controlar así la infección, debido a que las consecuencias de esta enfermedad pueden ser fatales. En ocasiones el diagnóstico en los primeros estadios de la enfermedad es difícil por la falta de especificidad de los marcadores habituales (PCR y WBC) y por que el

cultivo sanguíneo y de líquido cefalorraquídeo (LCR) y la reacción en cadena de la polimerasa son pruebas tardías (el cultivo bacteriano 2 días y el vírico 3-8 días). Existen diferencias geográficas en la incidencia de esta enfermedad (Estados Unidos 1,3/100.000 habitantes, Irlanda 14,8/100.000 habitantes) y es frecuente en niños menores de 4 años y adolescentes. Además, se ha observado que la vacuna antineumocócica (vacuna conjugada heptavalente indicada para la inmunización frente a infecciones causadas por *Streptococcus pneumoniae*) contra infecciones causadas por *S.pneumoniae* es menos eficaz en los niños menores de 2 años y que la duración de la protección es menor<sup>209</sup>.

En pacientes con meningitis unos autores presentan a la PCT, utilizando como punto de corte 0,5 ng/mL, como el marcador más sensible (69 %) y más específico (100 %) para diagnosticar una meningitis bacteriana versus vírica en adultos<sup>210</sup>. Otros autores cuando eligen un punto de corte de 0,2 ng/mL obtienen resultados con sensibilidad y especificidad parecidas (95,6 %, 80,4 %, respectivamente) frente a los marcadores habituales de diagnóstico como los PMN, la PCR y el ratio de glucosa LCR/suero y proteínas en los que existe un solapamiento entre meningitis vírica y bacteriana, y apuntan la ausencia de PCT en LCR<sup>211</sup>, a pesar de que otros autores detectan niveles de PCT en LCR<sup>212</sup>. En definitiva, la PCT en suero tiene una AUC de 0,98 frente a 0,81 de la PCR<sup>213</sup>. A pesar de estos resultados tan satisfactorios existen trabajos en los que la PCT no es capaz de discernir el tipo de meningitis, es sensible (100 %) pero no específica (solo un 50 %) para bacterias no típicas o en infección nosocomial tras neurocirugía<sup>214</sup>.

En la población pediátrica con una PCT sérica de 5 ng/mL se obtiene una sensibilidad de 94 % y una especificidad del 100 %, es decir es siempre discriminante entre meningitis vírica y bacteriana, mientras que no ocurre lo mismo con la PCR y la IL-6 en las que existe un solapamiento de los niveles en los primeros estadios de la enfermedad<sup>215, 216</sup>. Otros autores presentan distintos puntos de corte en la población adulta y en la pediátrica, 0,5 ng/mL y 2 ng/mL respectivamente, y se obtiene una sensibilidad del 93 % y una especificidad del 85 % frente a la PCR y el WBC que no son específicos<sup>217, 218, 219</sup>. Además tras un tratamiento adecuado la concentración de PCT disminuye antes de las 48 horas

del inicio del mismo, mientras que el lactato, el conteo de PMN y las proteínas entre las 48-72 horas, y finalmente la PCR que decrece significativamente a partir de las 72 horas<sup>220</sup>.

#### 1.4.2.1 Procalcitonina y neumonía

La neumonía es una enfermedad mundial frecuente tanto de origen nosocomial (40 % de las infecciones nosocomiales) como adquirida en la comunidad (46 % de las infecciones adquiridas en la comunidad), constituye el 47 % de las infecciones en la UCI y es una de las enfermedades más comunes en la población infantil. Se estima que en Estados Unidos la incidencia anual de neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es de unos 4 millones de casos y de neumonía nosocomial (NN) de 1 millón. Pese a la existencia de diferencias etiológicas de la enfermedad en función del área geográfica y de la edad, el diagnóstico tardío y/o erróneo de la misma puede tener consecuencias fatales en la evolución del paciente, así como una hospitalización y tratamiento innecesario, costoso y molesto para el paciente, además el aumento de las resistencias que desemboca en una mayor virulencia de las cepas (leucocidina Panton-Valentine) y por tanto un aumento de la morbi-mortalidad<sup>221, 222, 223</sup>.

El diagnóstico de certeza de neumonía es el hemocultivo pero solamente el 30-50 % de los mismos es positivo, además el resultado está disponible pasadas las 48-72 horas de la toma de muestra. De manera que ante unos signos clínicos confusos (cianosis, fiebre), marcadores habituales de infección no determinantes (PMN, PCR), e incluso una neumonía vírica sobreinfectada bacteriana es frecuente el comienzo de un tratamiento antibiótico empírico de la enfermedad<sup>224, 225, 226</sup>.

Ante esta necesidad algunos autores proponen a la PCT como marcador de neumonía en las fases iniciales de la enfermedad capaz de discernir entre una neumonía de origen vírico y de origen bacteriano con baja sensibilidad (50 %) pero alta especificidad (80 %) frente a un 31 % de sensibilidad de la PCR y describiendo un AUC de 0,75 para la PCT y 0,59 para la PCR. Los pacientes con una neumonía bacteriana además de tener unos niveles de PCT más elevados que los pacientes con neumonía vírica, niveles que se alcanzan antes que la PCR, tras un tratamiento adecuado estas concentraciones retornan a valores de normalidad antes que la PCR y se puede utilizar como marcador de gravedad y pronóstico de la enfermedad<sup>227, 228, 229, 230</sup>. Además se

calcula que en la infección del tracto respiratorio inferior se pautan alrededor del 39 % de antibióticos innecesariamente y con la medición de la PCT este porcentaje disminuiría<sup>231</sup>, es decir se plantea como un marcador diagnóstico y pronóstico de infección del tracto respiratorio inferior<sup>232</sup>.

Ante la necesidad de establecer un diagnóstico precoz y acertado se han creado modelos multivariantes en los que se incluyen signos, síntomas y datos de laboratorio, y con estos modelos (incluyendo la PCT) se ha obtenido un AUC de 0,92 y se ha observado que en el Servicio de Urgencias la concentración de la PCT presenta la mayor fiabilidad diagnóstica<sup>233</sup>. Sin embargo, otros autores defienden que esta proteína no aumenta en las neumonías bacterianas atípicas y que a pesar de ser un marcador precoz de la evolución de la enfermedad respiratoria y tener unos niveles más elevados en la neumonía bacteriana no es posible establecer la utilidad diagnóstica ni pronóstica de la misma<sup>234, 235</sup>.

En la población pediátrica los resultados son similares a la población adulta, con una alta especificidad (80 %) pero con una baja sensibilidad (50 %) aunque siempre mayor que la PCR (31 %) o la IL-6 (34 %), además debido posiblemente al distinto mecanismo de acción de estos marcadores una combinación de los mismos no mejora la sensibilidad diagnóstica. Proponen distintos puntos de corte, para obtener distintas sensibilidades y especificidades, así como valorar la edad del niño ya que en los niños de mayor edad la concentración de PCT alcanza valores superiores, y pese a obtener una AUC de 0,61, mayor que para la PCR, existe un solapamiento en ciertos niveles debido posiblemente a coinfecciones bacteria-virus y bacterias atípicas<sup>236, 237, 238</sup>. Es importante destacar que en pediatría existe una estrecha relación entre la etiología de la neumonía y la edad del niño, así como las coinfecciones bacteria-virus que alcanzan hasta un 16 % de las infecciones totales<sup>239</sup>. Se ha observado que no existen diferencias en el patrón de neumonía alveolar o intersticial<sup>240, 241</sup>.

La neumonía asociada a ventilación mecánica es una de las neumonías nosocomiales más frecuentes y que causa alta mortalidad, de manera que se busca un diagnóstico rápido y tratamiento adecuado para evitar complicaciones. En este tipo de neumonía la PCT describe una curva con un AUC de 0,79 (punto de corte de 3,9 ng/mL) con una sensibilidad baja (41 %) pero con una especificidad del 100 %, además



el valor de PCT es pronóstico indicativo de supervivencia en los pacientes graves con complicaciones<sup>242, 243</sup>.

En el síndrome del distrés respiratorio agudo distingue la causa infecciosa de la no infecciosa con una sensibilidad y especificidad del 80 % en la fase temprana de la enfermedad antes incluso del aislamiento de la bacteria y de que el diagnóstico de sepsis se haya realizado y se mantiene en esos niveles hasta las 72 horas. Además no existe un solapamiento entre ambos grupos de pacientes (infecciosos versus no infecciosos), mientras que otros marcadores habituales como la PCR o la IL-6 no presentan valores discriminantes y se observa un solapamiento en sus concentraciones. De manera que la concentración de la PCT elevada es sugestiva de tratamiento antibiótico, al mismo tiempo que su monitorización permite conocer la bondad de la pauta antibiótica<sup>244, 245</sup>.

#### 1.4.2.2 Procalcitonina y sepsis

La sepsis es una de las causas más frecuentes de morbi/mortalidad (estancia media de 17 días y mortalidad media del 25,3%) en pacientes ingresados en la UCI (incidencia en Estados Unidos 750.000 casos por año) y a pesar de la existencia de definiciones consenso, los signos y síntomas clínicos y los datos de laboratorio (fiebre, taquicardia, conteo de leucocitos...) se superponen, de manera que el diagnóstico diferencial entre sepsis y respuesta inflamatoria sistémica es difícil. Además se baraja que solamente entre un 20-30 % de los cultivos son positivos en pacientes sépticos y existe una demora desde la toma de muestra hasta la obtención del resultado (aproximadamente 48 horas). Como consecuencia de este problema en la práctica clínica habitual se han propuesto múltiples marcadores de infección bacteriana, y así existen autores que presentan a la PCT como una proteína capaz de discernir entre estas dos patologías con una sensibilidad de 89 %, una especificidad de 94 % y un AUC de 0,82, incluso existen trabajos que indican que cuando se mide junto con el C3a aumenta la AUC diagnóstica hasta 0,93<sup>246, 247, 248, 249, 250, 251</sup>, mientras que la PCR presenta un AUC de 0,76, la IL-6 de 0,75 y la IL-8 de 0,71 mientras que la neopterin es el mejor marcador diagnóstico de las infecciones víricas en estos pacientes<sup>252, 253, 254, 255, 256</sup>.

Algunos autores proponen que la concentración de PCT es proporcional a la extensión del tejido dañado y a la hipovolemia del paciente de manera que es también un indicador de la severidad en un shock hipovolémico<sup>257, 258</sup>. Es importante destacar

que debido a las diferencias en el metabolismo cinético de la PCT y la PCR, la primera disminuye su concentración o retorna a valores de normalidad a las 24-48 horas de la resolución de la enfermedad mientras que la segunda puede permanecer aumentada hasta dos semanas. Además se ha comprobado que la concentración de PCT puede tener un valor en la evolución y pronóstico en estos pacientes tanto en una resolución positiva de la enfermedad como en el desarrollo de un fracaso multiorgánico y mortalidad<sup>259, 260, 261, 262, 263</sup>. Es importante destacar que un aumento de la PCT no indica la etiología microbiológica de la infección pero si es indicativa del origen bacteriano de la misma y que este aumento tiene lugar previo a las complicaciones clínicas de la infección<sup>264</sup>.

Otra aplicación importante en los pacientes ingresados en la UCI es que el éxito del tratamiento antibiótico y de una intervención quirúrgica se puede monitorizar con los niveles de PCT. De esta manera se puede conocer el momento idóneo de la retirada del fármaco, evitando el abuso y por tanto disminuyendo las posibles resistencias, los efectos adversos de una terapia antibiótica y los costes. Así, la PCT junto con la elastasa- $\alpha_1$ -antitripsina son los mejores marcadores para comenzar una pauta antibiótica a pesar de que reciben tratamiento un 23 % de pacientes más del necesario y no reciben tratamiento un 16 % de los mismos<sup>265, 266</sup>.

Al trasladar esta problemática a la población pediátrica la dificultad se agudiza por los signos y síntomas poco específicos del niño febril, por eso la importancia de estudios en los que se ha comparado los habituales marcadores de infección (PCR y WBC) con la PCT en función de la edad y se han obtenido resultados tan satisfactorios como una AUC 0,96 para niños de menos de 3 meses, 0,97 para niños con edades comprendidas entre 3 meses y 36 meses y 0,92 para niños mayores de 36 meses como marcador de shock séptico, frente a la PCR y el WBC que tienen una AUC de 0,75 y 0,53 respectivamente<sup>267, 268</sup>.

En contra de lo anteriormente mencionado respecto a pacientes ingresados en la UCI, unos autores defienden a la PCR como marcador de diagnóstico de infección con una sensibilidad del 71,8 %, una especificidad de 66,6 % y una AUC de 0,88 frente a 67,6 %, 61,3 % y 0,69 respectivamente para la PCT. Sin embargo, proponen a la PCT como un marcador adicional a la PCR de ayuda al diagnóstico, y como mejor marcador de la severidad y del pronóstico de la infección<sup>269, 270, 271, 272</sup>. Pese a todo existen

resultados contradictorios en estos aspectos, así unos autores defienden el índice APACHE III y el SDMO como mejores marcadores pronóstico que la PCT y que el ratio corporal cetónico arterial (AKBR) presentando AUC de 0,92, 0,91, 0,69 y 0,32 respectivamente<sup>273</sup>, y mientras que otros afirman que ni la PCT ni el SOFA son indicativos del pronóstico del paciente, y apuntan a la HMGB1 como la proteína que presenta una AUC de 0,71, con una sensibilidad del 66 % y una especificidad del 67 % en el día 3 del comienzo de los síntomas<sup>274</sup>.

Según algunos autores, un factor determinante cuando se interpreta el resultado de la concentración de PCT en pacientes ingresados en UCI es el origen de la patología subyacente, siendo necesario distinguir las causas médicas de las quirúrgicas, ya que se ha observado que la concentración media de PCT es mayor en los pacientes quirúrgicos, y por tanto la utilidad diagnóstica de la PCT es de mayor valor en los pacientes ingresados por causa médica. Así, la concentración media de la PCT en pacientes ingresados en la UCI por causas médicas no infectados respecto a los pacientes quirúrgicos es 0,45 ng/mL *versus* 3,89 ng/mL y en los pacientes infectados es 3,18 ng/mL y 10,45 ng/mL, respectivamente, y obtienen un AUC de 0,906, una sensibilidad de 82,9 % y una especificidad de 82,6 % al diferenciar pacientes infectados de los no infectados con un punto de corte de 1 ng/mL. Mientras que para diferenciar una respuesta inflamatoria sistémica *versus* infección el AUC obtenida es de 0,883, una sensibilidad de 82,9 % y una especificidad de 80,2 % cuando se utiliza un punto de corte de 1 ng/mL<sup>275, 276</sup>.

Se ha observado que en niños con fiebre sin signos localizados la PCT permite diferenciar entre una infección vírica *versus* una infección bacteriana con una AUC de 0,95 (punto de corte > 0,4 ng/mL) frente a la PCR y la IL-6 que presentan una AUC de 0,81 y 0,78, respectivamente<sup>277, 278</sup>.

Existen múltiples factores que predisponen al neonato a padecer una sepsis como son la hipertensión materna, la diabetes materna, la rotura de bolsa antes de las 24 horas del nacimiento, edad gestacional... Los gérmenes más frecuentemente aislados son *Streptococcus del grupo B* (31 %), *Escherichia coli* (16 %) y *Haemophilus influenzae* (12 %)<sup>279</sup>.

Se ha descrito un aumento fisiológico de la PCT en neonatos sanos a las 24-48 horas de vida, así la concentración media de la PCT en los días 0, 1 y 3 fue de 0,45 ng/mL, 3,82 ng/mL y 0,65 ng/mL respectivamente en niños sanos, mientras que en el grupo de infectados la concentración de PCT en el día 1 fue de 162 ng/mL. Existen trabajos en los que se describen los factores perinatales que pueden aumentar la concentración de PCT, como por ejemplo hijos de madres diabéticas<sup>280, 281, 282, 283, 284</sup>, o factores independientes del aumento de PCT, como la corioamnionitis. Debido a esta variación fisiológica de los niveles de PCT se han propuestos distintos puntos de corte en función de la edad para el diagnóstico de sepsis neonatal, así con una concentración de PCT de 0,55 ng/mL en el nacimiento se obtiene una sensibilidad de 75,4 % y una especificidad de 72,3 %, mientras que cuando la determinación de PCT se realiza entre 12-24 horas de vida o entre las 36-48 horas utilizaremos un punto de corte de concentración de PCT de 4,7 ng/mL y de 1,7 ng/mL, respectivamente, se obtienen sensibilidades de 73,8 % y 77,6 % y especificidades de 80,8 % y 79,2 % para cada periodo<sup>285</sup>.

Sin embargo, a pesar de esta variación en los niveles de PCT se ha observado que la PCT tiene una sensibilidad de 85,7 % para diagnosticar una infección neonatal en el primer día de vida frente a la PCR de 46,4 %. Además si posponemos la medición 24 horas las sensibilidades de la PCT y de la PCR aumentan hasta 100 % y 89,2 %, respectivamente<sup>286</sup>. Para el diagnóstico de la sepsis neonatal tardía la PCT mostró un AUC de 0,82 frente a la PCR y el recuento leucocitario de 0,62 y 0,56, respectivamente, presentando una sensibilidad de 76 % y una especificidad de 79 % (punto de corte 1 ng/mL)<sup>287</sup>. Sin embargo, existen estudios contradictorios en los que proponen la PCT como mejor marcador de diagnóstico séptico entre las 12 y 24 horas del nacimiento (especificidad de 95 % y sensibilidad mayor del 80 %) pero la combinación de PCR-IL-6 ó PCR-IL-8 presenta mejor rentabilidad diagnóstica<sup>288</sup>.

Existen estudios en los que han medido la concentración de PCT en sangre de cordón umbilical para diagnóstico de infección bacteriana intrauterina y se ha observado que el mayor nivel de PCT aparece en neonatos pretérmino con infección describiendo una AUC de 0,75, con una sensibilidad de 69 % y una especificidad de 81 % mientras que con la PCR se obtienen valores de 0,61, 22 % y 97 %, respectivamente y el WBC carece de capacidad diagnóstica ya que posee una AUC de 0,50<sup>289, 290</sup>.

En este grupo de pacientes las infecciones nosocomiales son frecuentes, en España un 2,1 % de los ingresos, pero oscila en un 1,3 % en neonatos de peso  $\geq 1500$  gramos y 17,3 % en los de peso  $\leq 1500$  gramos, debido al incremento en la supervivencia de recién nacidos de bajo peso. De manera que un diagnóstico precoz reduciría el uso de tratamiento antibiótico empírico. Al determinar la capacidad diagnóstica de la PCT, PCR y el índice de inmadurez se describen AUC similares, siendo 0,85, 0,88 y 0,88, respectivamente. La ventaja de la PCT es que debido a su cinética tras el tratamiento adecuado retorna a sus valores de normalidad en 24 horas y que en el 80 % de las infecciones víricas no excede de los rangos de normalidad, mientras que la PCR tarda más tiempo en volver a su nivel basal y puede aumentar hasta en el 40 % de las infecciones víricas. Es importante destacar que diversos autores han descrito distinta manifestación de reacción inflamatoria en función del microorganismo, así las infecciones por *Staphylococcus* coagulasa negativo y *Staphylococcus epidermidis* parece ser que producen una reacción inflamatoria más débil y los niveles de PCT son inferiores a lo esperado<sup>291, 292, 293</sup>.

En el recién nacido con una hipoxia grave la concentración de PCR está elevada sin infección bacteriana, al igual que la IL-6, mientras que la PCT proporciona unos resultados más fiables respecto a la existencia o no de infección en estos niños, ya que la PCT se eleva discretamente<sup>294, 295</sup>.

## **2. OBJETIVOS**

## 2 Objetivos

### 2.1 Objetivo principal

Evaluar la capacidad diagnóstica de la concentración sérica de la PCT en pacientes pediátricos no neonatos con una infección respiratoria localizada, neumonía, y en pacientes neonatos con una infección generalizada, comparándola con otros marcadores de infección, población leucocitaria y concentración sérica de la PCR.

### 2.2 Objetivos secundarios

2.2.1 Evaluar la utilidad diagnóstica de la determinación del Ag del *S.pneumoniae* en la orina de pacientes pediátricos con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores.

2.2.2 Determinar la concentración sérica de la PCT en población pediátrica no neonatos, en recién nacidos a término y neonatos prematuros, con el fin de establecer unos valores de referencia en cada una de las poblaciones.

2.2.3 Conocer la influencia de algunos factores perinatales, maternos y del neonato, en las concentraciones de los marcadores habituales de infección (población leucocitaria, PCR y PCT).

2.2.4 Analizar la concentración sérica de la PCT en pacientes pediátricos infectados en función de la etiología de la misma (bacteriana, vírica o fúngica).

2.2.5 Analizar los marcadores de infección (población leucocitaria, concentración sérica de la PCR y de la PCT) de pacientes neonatos con bacteriemia y pacientes neonatos con sepsis.

### **3. MATERIAL Y METODOS**



## 3 Material y métodos

### 3.1 Sujetos

La realización de este estudio prospectivo se desarrolló en el Hospital Materno-Infantil del Hospital Universitario "La Paz" durante el periodo octubre 2003 - junio 2004.

#### 3.1.1 Población control

3.1.1.1 Se seleccionaron 21 niños sanos, con edades comprendidas entre los 9 meses y medio y 13 años y medio, cuyo motivo para la realización de la extracción de sangre era estudios preoperatorios para cirugía menor y de causas ajenas a enfermedades inflamatorias y/o infecciosas. En este grupo se recogió la edad y el sexo del niño y se determinaron las concentraciones de los marcadores habituales de infección (PCT sérica, PCR sérica y hemograma completo).

3.1.1.2 Se seleccionaron 18 mujeres embarazadas sanas cuyo embarazo había sido controlado que tuvieron recién nacidos a término clínicamente sanos, y se obtuvo muestra de sangre de cordón umbilical de cada uno de ellos.

En este grupo de pacientes se estudiaron distintas variables perinatales con la finalidad de conocer si existía una influencia entre las anteriores y los niveles séricos de PCT en la sangre de cordón umbilical, y así se valoraron las siguientes:

- Factores relacionados con la mujer y el parto. Conocer si era portadora de *S.agalactie*, semanas de gestación, tipo de parto (vaginal o cesárea), si se había administrado anestesia epidural durante el parto, duración del parto y el tiempo de bolsa rota menor de 12 horas o entre 12-18 horas
- Factores del neonato. Sexo y peso del recién nacido

### 3.1.2 Pacientes

3.1.2.1 Se estudiaron 79 niños, 42 niñas y 37 niños, con edades comprendidas entre 7,2 meses y 13 años, que acudían al Servicio de Urgencias del Hospital Infantil con sospecha clínica de infección de vías respiratorias inferiores. Se realizó un estudio detallado a cada niño en el que se incluían datos de laboratorio, clínicos y radiografía de tórax.

- Datos de laboratorio. Concentración sérica de PCR y PCT, hemograma completo, Ag del neumococo en orina, hemocultivo y serología específica de bacterias atípicas (*Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*)
- Datos clínicos. Dolor pleural y/o abdominal, auscultación, fiebre, tos
- Radiografía de tórax. Imagen pulmonar de condensación o de infiltrados

El criterio de exclusión en este grupo de pacientes fue que el niño hubiera recibido antibioterapia previa.

3.1.2.2 Se estudiaron 227 pacientes, 125 niños y 102 niñas, con edades comprendidas entre los 0 días y 41 días, todos ellos ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales.

Los criterios de inclusión de esta población fueron los siguientes:

- Neonatos con riesgo de infección
  - Niños nacidos de madres portadoras de *S.agalactie* y con sospecha clínica de infección
  - Niños nacidos prematuros de bolsa rota de más de 12 horas
  - Niños nacidos a término de bolsa rota de más de 18 horas

- Neonatos con sospecha clínica de infección. En estos niños se tiene en cuenta la perfusión tisular, la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria y el tono muscular
- Prematuros. Recién nacidos con semanas de gestación igual o inferior a 36 semanas

Los criterios de exclusión en esta población fueron que el niño tuviera más de 41 días de edad y hubiera recibido antibioterapia previa a la extracción de sangre.

A esta población se les realizó un estudio clínico y analítico detallado según la práctica habitual, y se valoraron aspectos perinatales que podrían influir en la patología del recién nacido y en la concentración de los marcadores a estudio (población leucocitaria, PCR y PCT). Así se valoraron los siguientes aspectos:

- Factores relacionados con la mujer. Patología materna (diabetes, hipertensión), si era portadora de *S.agalactie*, semanas de gestación, tiempo de bolsa rota, tipo de parto (cesárea o vaginal) y si había tenido fiebre intraparto
- Factores relacionados con el neonato. Prematuridad, crecimiento intrauterino retardado (CIR), existencia de corioamnionitis, pH de la arteria umbilical al nacer, tipo de reanimación, test de Apgar a los 5 minutos, existencia de patología respiratoria e ictericia

En base a los datos clínicos recogidos, al resultado del hemocultivo y a su evolución, clasificamos a los neonatos en 5 grupos representados en la tabla 1. El grupo de neonatos “no infectados” estaba formado por todos aquellos pacientes sin clínica de infección y con hemocultivo negativo, hemocultivo no realizado o hemocultivo positivo para *S.epidermidis*.

Tabla 1. Clasificación de la población de neonatos en función del estudio clínico y del hemocultivo

GRUPO	MOTIVO DE PETICION	HEMOCULTIVO
No infectado	Analítica control y/o riesgo de infección	Negativo/ No realizado/ Positivo ( <i>S. epidermidis</i> )
Infección dudosa	Riesgo o sospecha de infección	Negativo
Infección dudosa sin hemocultivo	Riesgo o sospecha de infección	No realizado
Sospecha de infección no confirmada	Riesgo o sospecha de infección	Negativo
Infectado	Riesgo o sospecha de infección	Positivo

Se define como sepsis neonatal el síndrome clínico caracterizado por signos y síntomas de infección sistémica, que se confirma al aislarse en el hemocultivo o determinarse por técnicas específicas, bacterias, hongos o virus y que se manifiesta dentro de los 28 días de vida. Actualmente también se denomina sepsis neonatal para recién nacidos de muy bajo peso (menos de 1.500 gramos) aunque tengan más de 28 días de vida.

### 3.2 Protocolo de estudio

El protocolo de estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación y el Comité de Ética de la Investigación Clínica del Hospital La Paz y se realizó de acuerdo con los principios de la declaración de Helsinki para la investigación en seres humanos.

Por motivos éticos no se realizaron extracciones de sangre adicionales a ninguno de los niños incluidos en el estudio. Las determinaciones de laboratorio que se llevaron a cabo fueron las siguientes:

- Determinaciones séricas. La extracción de sangre se realizó en un tubo seco con gel separador. Las muestras de sangre total se centrifugaron a

3500 r.p.m. durante 10 minutos para separar el suero y se cuantificó la PCR, la creatinina y la bilirrubina total. Una vez realizadas estas determinaciones se separó el suero restante en un tubo tipo eppendorf de 1 mL y se congeló a -20° C para la determinación de PCT durante un periodo siempre inferior a 2 meses.

- Determinaciones en sangre total. La extracción de sangre se realizó en un tubo con EDTA K<sub>3</sub> como anticoagulante. Se determinó un hemograma completo. Se observó al microscopio una extensión de la sangre periférica del paciente, destacando la posible presencia de eritroblastos y de desviación izquierda. Todas las extensiones fueron revisadas por el mismo facultativo, evitando así diferencias interobservador.
- Determinación en orina. Se recogió orina en un tubo seco y estéril. Se realizó la prueba de detección del Ag del *S.pneumoniae*, como prueba a la cabecera del paciente (POCT).
- Se remitieron las muestras de los pacientes al Servicio de Microbiología, para la realización del hemocultivo y la serología específica de las bacterias atípicas, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*, con la finalidad de identificar el agente causal.

### 3.3 Métodos analíticos

La concentración de PCT en suero se determinó mediante un método inmunofluorescente utilizando la tecnología TRACE en el analizador Kryptor® (Brahms Diagnóstica GmbH, Germany).

La concentración de PCR en suero se determinó utilizando un inmunoensayo turbidimétrico (PETIA). El aumento de turbidez se mide espectrofotométricamente a una  $\lambda$  de 340 nm en el analizador Dimension RxL® (Dade–Behring, USA).

La concentración de bilirrubina total en suero se determinó por el método de Jendrassik y Grof modificado. Es una técnica bicromática que mide espectrofotométricamente a una  $\lambda$  de 540 y 700 nm en el analizador Dimension RxL® (Dade–Behring, USA).

La concentración de creatinina en suero se determinó mediante un método cinético de Jaffé modificado. Es una técnica bicromática que mide espectrofotométricamente a una  $\lambda$  de 510 y 600 nm en el analizador Dimension RxL® (Dade–Behring, USA).

El hemograma completo se determinó mediante citometría de flujo el número, tamaño y clasificación de células sanguíneas y plaquetas, y la concentración de hemoglobina mediante espectrofotometría en el analizador Cell-Dyn 4000 System (Abbott GmbH Diagnóstica, Germany).

Para la fórmula manual se realizó una extensión de sangre periférica utilizando como método de tinción un panóptico rápido.

La detección del Ag del *S.pneumoniae* en orina se realizó mediante un inmunoensayo cromatográfico cualitativo para la detección del Ag neumocócico soluble en la orina humana mediante el ensayo Now *Streptococcus pneumoniae* (BINAX NOW®). Se basa en la visualización del complejo que se forma entre los Ac anti-*S.pneumoniae* localizados en la membrana de nitrocelulosa y los Ag de *S.pneumoniae* presentes en la orina de los pacientes infectados por dicha bacteria.

Los Ac específicos contra las bacterias atípicas se determinaron mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI).

### 3.4 Métodos estadísticos

La descripción de los datos cualitativos se realizó en forma de frecuencias absolutas y porcentajes, y los datos cuantitativos mediante media  $\pm$  desviación estándar, mediana, mínimo y máximo.

Los datos cualitativos se han comparado usando el test de la chi-cuadrado. Si se comparaban tablas de 2x2 se usó el test exacto de Fisher.

En la comparación de datos cuantitativos entre dos grupos, se utilizó un test de la t'Student para datos independientes como prueba paramétrica y el test de la U de Mann-Whitney como prueba no paramétrica, dependiendo de la distribución de los datos.

En la comparación de datos cuantitativos entre más de dos grupos, se utilizó un análisis de la varianza de un factor como prueba paramétrica y el test de Kruskal-Wallis como prueba no paramétrica, dependiendo de la distribución de los datos.

Para determinar la correlación entre datos cuantitativos se usó el coeficiente de correlación de Pearson.

Se valoró la capacidad discriminante de los diferentes marcadores para clasificar los pacientes entre infectados y no infectados, bacterias versus virus, bacterias versus hongos, mediante el área bajo la curva (AUC) característica (curva ROC) correspondiente. Se utilizaron diferentes modelos de regresión logística multivariante para obtener combinaciones de esos marcadores y se valoró su capacidad discriminante por el mismo método.

Todas las pruebas estadísticas se han considerado bilaterales y como valores significativos, aquellos cuyo valor de p fuera inferior a 0.05. Los datos se han analizado con el programa estadístico SPSS 9.0 (SPSS Inc.).

## **4. RESULTADOS**



## 4 Resultados

### 4.1 Población pediátrica control no neonatos

Se seleccionaron 21 niños sanos, con edades comprendidas entre los 9 meses y medio y los 13 años y medio (media de 6,4 años), que acudían a la Unidad de extracciones del Hospital Infantil para realizarse un estudio preoperatorio con motivo de una cirugía menor de causas ajenas a enfermedades inflamatorias y/o infecciosas, a los que se les determinaron marcadores de infección habituales (población leucocitaria, PCR y PCT). La media y la desviación estándar de los mismos quedan reflejados en la tabla 2.

Tabla 2. Valores de marcadores de infección en la población pediátrica control no neonatos

Marcadores de infección	Media $\pm$ desviación estándar
PCT (ng/mL)	0,04 $\pm$ 0,03
PCR (mg/L)	1,22 $\pm$ 1,06
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	7,72 $\pm$ 2,40
Plaquetas ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	340,81 $\pm$ 71,27

Se estudiaron estos mismos marcadores de infección en función del sexo de los niños (9 niños y 12 niñas) y se observó que no existían diferencias estadísticamente significativas en los valores de PCT, PCR, leucocitos y plaquetas en función de esta variable (tabla 3).

Tabla 3. Valores de marcadores de infección en la población pediátrica control no neonatos en función del sexo

Marcadores de infección	Media $\pm$ desviación estándar	
	Niños (n = 9)	Niñas (n = 12)
PCT (ng/mL)	0,04 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,03
PCR (mg/L)	1,68 $\pm$ 1,12	0,87 $\pm$ 0,90
Leucocitos (x 10 <sup>3</sup> /μL)	7,74 $\pm$ 2,20	7,71 $\pm$ 2,65
Plaquetas (x 10 <sup>3</sup> /μL)	348,22 $\pm$ 65,13	335,25 $\pm$ 77,93

## 4.2 Población normal de neonatos nacidos a término

Se seleccionaron 18 mujeres embarazadas sanas, todas ellas de raza caucásica, con un embarazo controlado y con un recién nacido a término clínicamente sano. Quince mujeres no eran portadoras de *S.agalactie* (83,3 % de casos).

Las semanas de gestación oscilaron entre 37 semanas y 41 semanas (mediana 39 semanas). El 50 % de las mujeres tenía la bolsa rota de menos de 12 horas y el otro 50 % entre 12-18 horas. El 100 % tuvo un parto vaginal espontáneo y al 72,2 % de las mismas se les administró anestesia epidural durante el mismo. La duración del parto tuvo una media de 7,8 horas (2,3 horas – 34,8 horas).

La mitad de los recién nacidos fueron niños y el peso medio del neonato fue de 3.100 gramos (2.410-3.770 gramos).

En todos los casos se determinó la concentración de PCT de sangre de cordón umbilical y se obtuvo una media de 0,22 ng/mL, con una desviación estándar de 0,29 (Rango de las concentraciones de PCT: 0,07-0,98 ng/mL).

En este grupo se valoraron los niveles de PCT en función de si la mujer era portadora de *S.agalactie*, si el tiempo de bolsa rota era menor de 12 horas o se encontraba en el intervalo de 12-18 horas y del sexo del neonato. Se observó que no existían diferencias estadísticamente significativas en función de las características previas, como queda reflejado en la tabla 4.

Tabla 4. Valores de PCT (ng/mL) en sangre de cordón umbilical en función de distintas variables de la madre y del recién nacido

Factores estudiados		PCT (ng/mL) Media $\pm$ ds	p
Portadora <i>S. agalactie</i>	No (n = 15)	0,25 $\pm$ 0,31	0,912
	Si (n = 3)	0,10 $\pm$ 0,01	
Horas de bolsa rota	Menos 12 (n = 9)	0,27 $\pm$ 0,34	0,297
	Entre 12-18 (n = 9)	0,17 $\pm$ 0,23	
Sexo del neonato	Niño (n = 9)	0,17 $\pm$ 0,22	0,489
	Niña (n = 9)	0,28 $\pm$ 0,35	

### 4.3 Pacientes con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores

Se estudiaron 79 pacientes, 37 niños y 42 niñas, con edades comprendidas entre los 7,2 meses y 13 años que acudieron al Servicio de Urgencias del Hospital Infantil del Hospital Universitario La Paz y cuyo motivo de consulta era una sospecha clínica de infección de vías respiratorias inferiores.

Muchos autores consideran la imagen de condensación en la radiografía de tórax como diagnóstico de neumonía por *S.pneumoniae* y de infiltrados como diagnóstico de neumonía vírica o bacteriana atípica (*Mycoplasma pneumoniae* o *Chlamydia pneumoniae*). En función de dicha clasificación, se estudió la existencia de diferencias estadísticamente significativas en la edad, en el valor absoluto de neutrófilos, en la PCR, en la PCT y en la fiebre entre ambos grupos. Se observó que tales diferencias existían en los marcadores de infección (valor absoluto de neutrófilos, la PCR y la PCT), mientras que no tenían lugar en la edad del niño ni en la fiebre como se puede observar en la tabla 5. No se encontró ninguna asociación entre la imagen de la placa de tórax (condensación o infiltrados) y el sexo.

Tabla 5. Media y desviación estándar de los valores de distintos aspectos estudiados en función de la imagen de la placa de tórax

Imagen de la placa de tórax	Condensación (n = 41) Media $\pm$ ds	Infiltrados (n = 38) Media $\pm$ ds	p
Edad (años)	3,34 $\pm$ 2,95	3,27 $\pm$ 2,90	0,912
Valor absoluto neutrófilos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )*	17,30 $\pm$ 8,85	10,31 $\pm$ 7,77	< 0,001
PCR (mg/L)*	200,06 $\pm$ 111,42	73,19 $\pm$ 81,35	< 0,001
PCT (ng/mL)*	9,93 $\pm$ 13,98	2,89 $\pm$ 5,29	0,004
Fiebre ° C	38,81 $\pm$ 0,79	38,50 $\pm$ 1,01	0,172

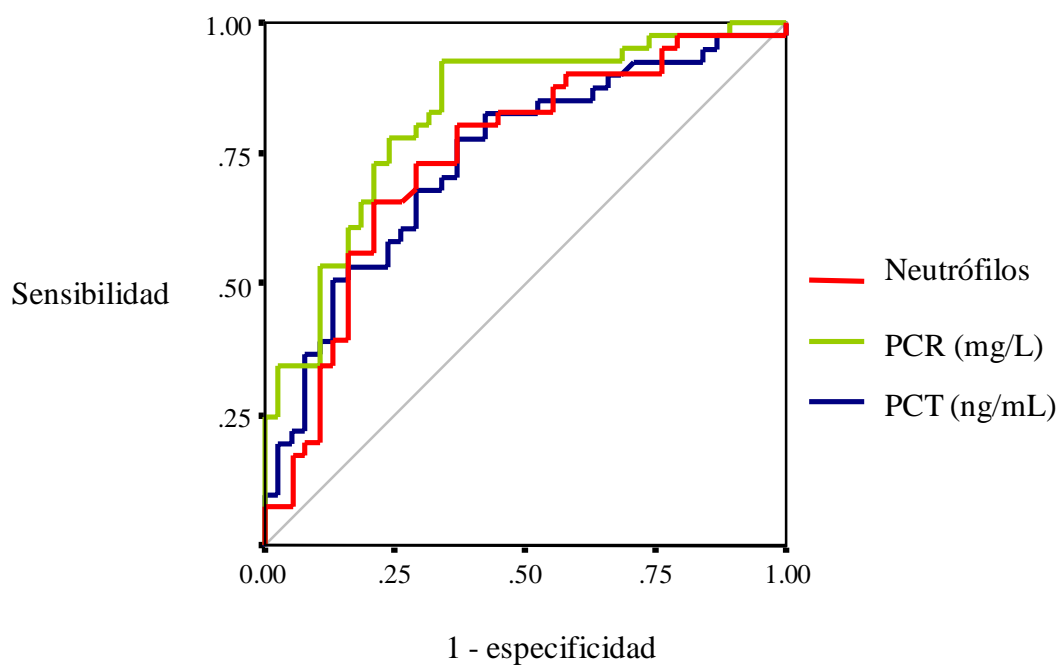
\*  $p < 0.05$

De manera que admitiendo una imagen de condensación en la placa de tórax como diagnóstico de certeza de neumonía por *S pneumoniae*, y tras observar la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los marcadores de infección en función de dicha imagen, se calculó el AUC del valor absoluto de neutrófilos, de la PCR y de la PCT que describían las curvas ROC que se muestran en la figura 2. Se observó que las AUC eran similares en los tres parámetros como muestra la tabla 6, siendo ligeramente superior el AUC de la concentración sérica de PCR (0,825) frente a la del valor absoluto de neutrófilos (0,743) y a la de la concentración sérica de PCT (0,740).

Tabla 6. Areas bajo la curva del valor absoluto de neutrófilos, PCR y PCT en función de la imagen de la placa de tórax en pacientes con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores

Marcador de infección	AUC (Intervalo de confianza)
Valor absoluto de neutrófilos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,743 (0,631 - 0,855)
PCR (mg/L)	0,825 (0,732 - 0,917)
PCT (ng/mL)	0,740 (0,630 - 0,850)

Figura 2. Curva ROC del valor absoluto de neutrófilos, PCR y PCT en función de la imagen de la placa de tórax en pacientes con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores





Para establecer el punto de corte idóneo de los marcadores de infección estudiados extrapolamos las concentraciones de los mismos en las curvas ROC anteriores buscando la mejor sensibilidad y especificidad de cada uno de ellos. De manera que si se utilizaba un punto de corte de 6.900 neutrófilos/ $\mu$ L para el diagnóstico de neumonía por *S.pneumoniae* se obtenía una sensibilidad del 90,2 % pero la especificidad era del 42,1 %, mientras que si se aumentaba dicho punto de corte a 10.700 neutrófilos/ $\mu$ L la sensibilidad disminuía a un 80,5 % pero la especificidad aumentaba hasta un 63,2 %. Al utilizar una concentración sérica de PCR de 59,03 mg/L se obtenía una sensibilidad del 92,7 % y una especificidad de 65,8 %, y cuando aumentábamos dicha concentración hasta 90,00 mg/L la sensibilidad y la especificidad variaban hasta valores de 80,5 % y 71,1 % respectivamente. Cuando se examinaba en la curva el mejor punto de corte para la concentración de PCT se obtenía que con un valor de 1,68 ng/mL la sensibilidad era del 70,7 % y la especificidad del 65,8 %. Mientras que si se utilizaba una concentración de PCT de 2,23 ng/mL se obtenía el diagnóstico de neumonía por *S.pneumoniae* con una especificidad del 71,1 % pese a que la sensibilidad disminuía a un 68,3 % respecto del punto de corte anterior (1,68 ng/mL).

A 57 de estos niños (72,2 % del total) se les realizó un hemocultivo y/o una serología específica de bacterias atípicas, y en base a estos resultados fueron clasificados como muestra la tabla 7. Se dividieron en 31 neumonías por *S.pneumoniae*, 8 neumonías por bacterias atípicas (*M.pneumoniae* y *C.pneumoniae*) y 18 casos en los que tanto el hemocultivo para el neumococo como la serología específica para las bacterias atípicas investigadas fueron negativos y de ahora en adelante nos referiremos a este grupo como “negativo”.

Tabla 7. Tipo de infección de vías respiratorias inferiores según estudio microbiológico

Tipo de neumonía	Número de casos (%)
<i>S.pneumoniae</i> (neumococo)	31 (39,2 %)
<i>M.pneumoniae</i> y <i>C.pneumoniae</i>	8 (10,1 %)
Negativo	18 (22,8 %)
No determinada	22 (27,8 %)

De este grupo de pacientes a los que se les había realizado un estudio microbiológico específico, se estudiaron las mismas variables que según la clasificación anterior, imagen de la placa de tórax (tabla 5). Los resultados en función de esta nueva clasificación quedan reflejados en la tabla 8.

Tabla 8. Media y desviación estándar de las distintas variables estudiadas en función del estudio microbiológico

Variables	Infección por neumococo (n = 31) Media $\pm$ ds	Infección por bacterias atípicas (n = 8) Media $\pm$ ds	Negativo (n = 18) Media $\pm$ ds
Edad (años)*, #	2,41 $\pm$ 1,75	6,25 $\pm$ 3,91	2,89 $\pm$ 3,05
Valor absoluto de neutrófilos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )&	17,15 $\pm$ 7,64	13,10 $\pm$ 11,51	11,97 $\pm$ 9,09
PCR (mg/L)*, &	221,38 $\pm$ 110,59	88,65 $\pm$ 86,68	86,17 $\pm$ 94,43
PCT (ng/mL)*, &	12,12 $\pm$ 15,56	0,98 $\pm$ 2,00	3,74 $\pm$ 5,80
Fiebre ° C&	38,98 $\pm$ 0,57	38,48 $\pm$ 0,68	38,07 $\pm$ 1,19

\*  $p < 0.05$  entre infección por neumococo y infección por bacterias atípicas

&  $p < 0.05$  entre infección por neumococo y negativo

#  $p < 0.05$  entre infección por bacterias atípicas y negativo

Se observó, según este criterio de clasificación, que en los pacientes con hemocultivo positivo para neumococo existían diferencias estadísticamente significativas respecto a los pacientes que tenían serología positiva específica de bacterias atípicas en la edad, en la PCR y en la PCT. También se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables, valor absoluto de neutrófilos, PCR, PCT y fiebre, respecto a los pacientes negativos.

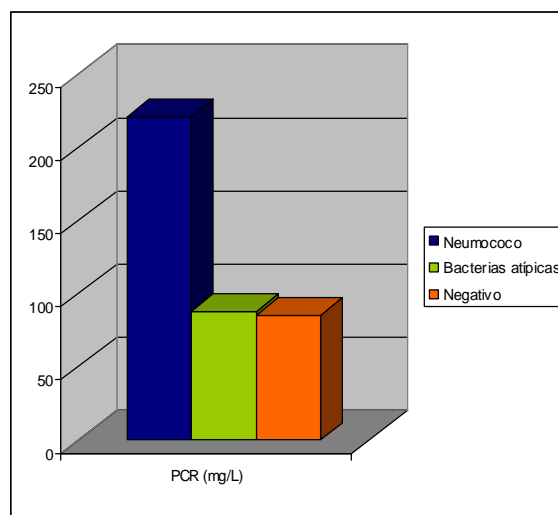
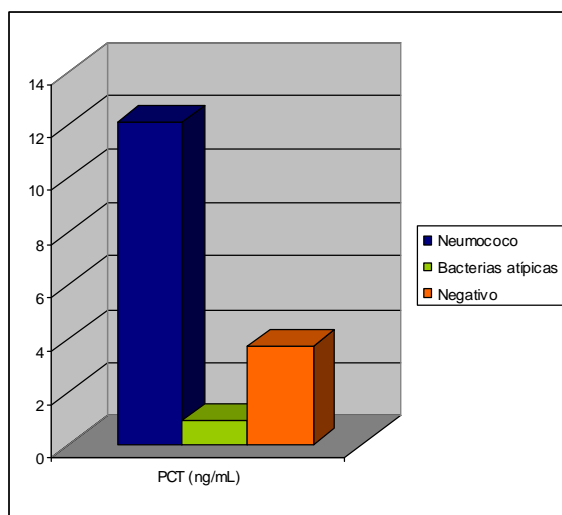
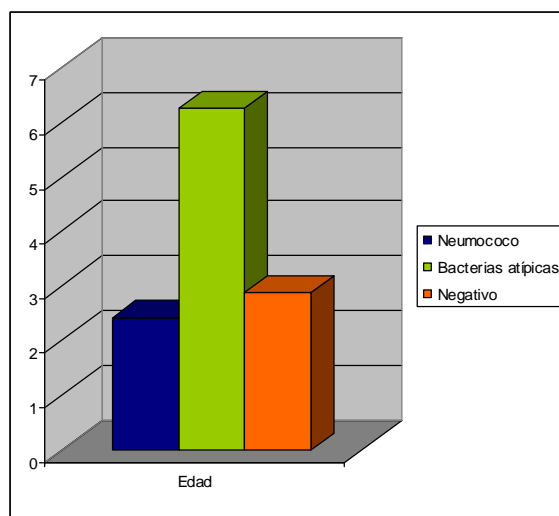
La única variable que mostró una diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con serología positiva específica de bacterias atípicas y los pacientes negativos era la edad, como se observa en la tabla 8.

De manera semejante a la clasificación en función de la imagen de la placa de tórax, según esta clasificación no se encontró ninguna asociación entre el sexo del paciente y la etiología de la infección.

También es digna de mención la similitud de la media de la concentración de la PCR en los grupos con serología positiva para bacterias atípicas y negativo, respecto del grupo con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae*.

Cuando se observa la tabla 8 cabe destacar la media obtenida para la edad en los pacientes con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* (2,41 años) respecto del grupo con serología positiva para bacterias atípicas (6,25 años), así como la media de la concentración de la PCR en los pacientes con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* (221,38 mg/L) respecto de los otros dos grupos, bacterias atípicas (88,65 mg/L) y negativo (86,17 mg/L). También es destacable la media de la concentración de la PCT en cada uno de los grupos estudiados (12,12 ng/mL, 0,98 ng/mL y 3,74 ng/mL, respectivamente) como se observa en la figura 3.

Figura 3. Media de la edad (años) de los niños, de la concentración de la PCR (mg/L) y de la PCT (ng/mL) en función del estudio microbiológico

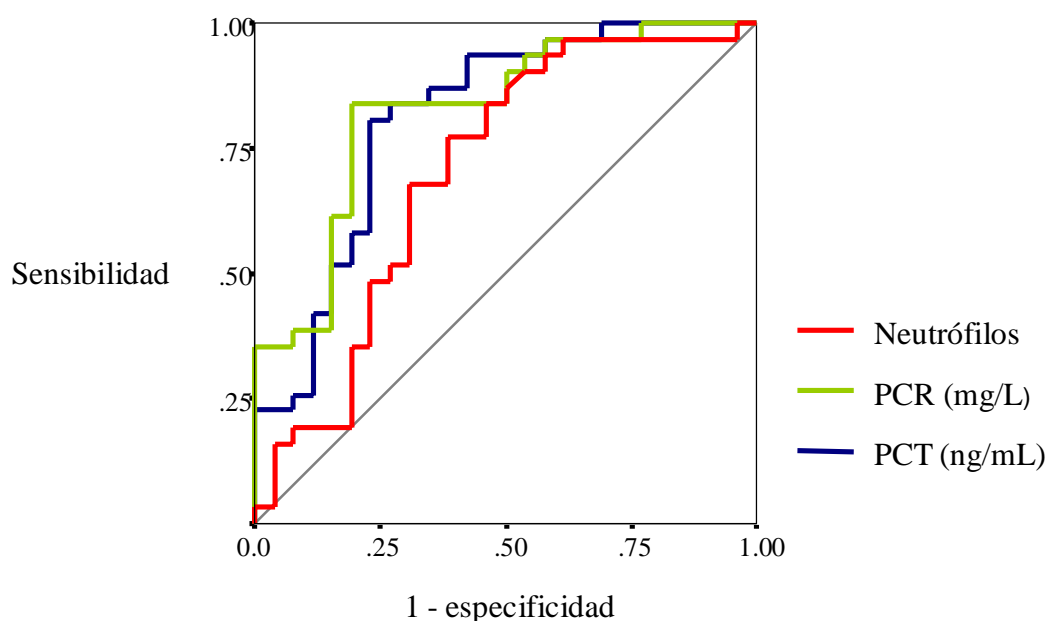


Cuando realizamos las curvas ROC utilizando como criterio de clasificación el estudio microbiológico y comparando los pacientes con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* frente a la suma de los pacientes con serología positiva específica de bacterias atípicas y los pacientes negativos se observaba que las AUC de la PCR y de la PCT eran similares, 0,826 y 0,811, respectivamente, mientras que el AUC del valor absoluto de neutrófilos (0,699) se alejaba de las dos proteínas en fase aguda estudiadas, como queda reflejado en la tabla 9, que describían las curvas ROC que se muestran en la figura 4.

Tabla 9. Areas bajo la curva de marcadores de infección utilizando como criterio de clasificación el estudio microbiológico, pacientes con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* versus pacientes con serología positiva para bacterias atípicas y pacientes negativos

Marcador	AUC (Intervalo de confianza)
Valor absoluto de neutrófilos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,699 (0,554 - 0,843)
PCR (mg/L)	0,826 (0,718 - 0,935)
PCT (ng/mL)	0,811 (0,696 - 0,927)

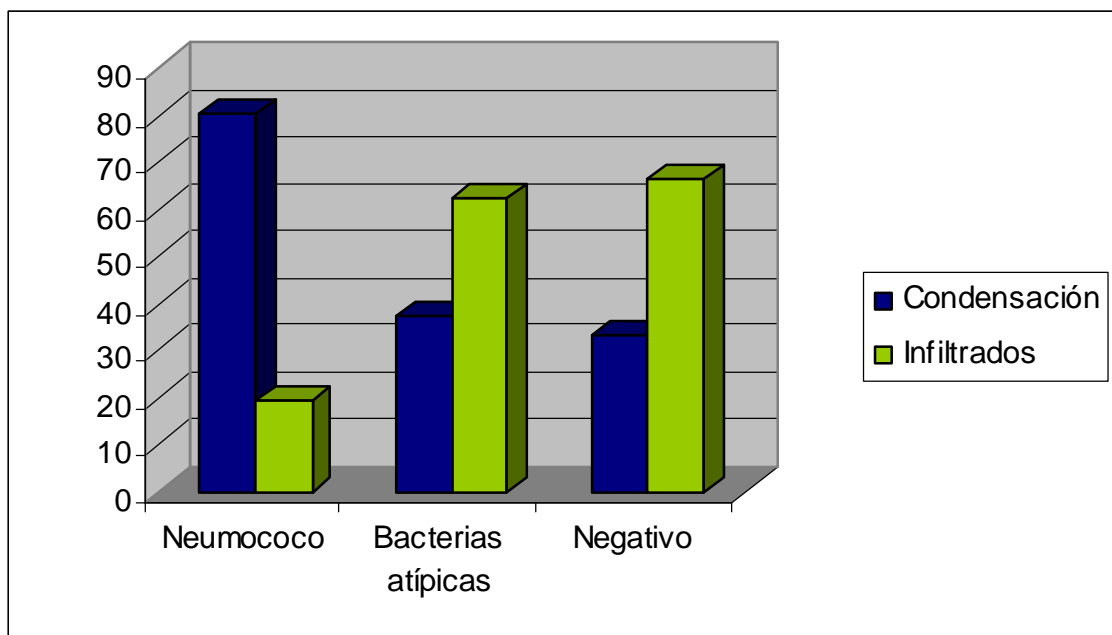
Figura 4. Curva ROC del valor absoluto de neutrófilos, PCR, PCT en función del estudio microbiológico



Cuando se analizan las curvas ROC anteriores se observaba que si se utilizaba punto de corte de 10.050 neutrófilos/ $\mu$ L se obtenía una sensibilidad del 83,9 % y una especificidad del 53,8 %, a diferencia de la PCR y la PCT que con una concentración de 119,50 mg/L y 1,68 ng/mL, respectivamente, se alcanzaba esa misma sensibilidad (83,9 %) en las dos proteínas y una especificidad de 80,8 % para la PCR y del 73,1 % para la PCT. Dado que la concentración media de la PCR en función del estudio microbiológico, en los pacientes con serología positiva para bacterias atípicas y en los pacientes negativos eran de 88,65 mg/L y 86,17 mg/L, se extrapolo en la gráfica una concentración de PCR de 90 mg/L, y se observó que se mantenía la sensibilidad obtenida con el valor anterior (83,9 %) pero la especificidad disminuía hasta un 61,5 %. De la misma manera y de acuerdo con diversos trabajos publicados en la literatura científica, que apuntan a una concentración sérica de la PCT de 2 ng/mL para diagnóstico de una infección bacteriana localizada, se extrapolo un valor de 2,10 ng/mL en la curva ROC y se obtenía el diagnóstico de certeza con una sensibilidad del 80,6 % y una especificidad del 76,9 %.

Quisimos comprobar la presunción inicial, basada en la literatura científica, que una imagen de condensación en la placa de tórax es diagnóstico de certeza de neumonía por *S.pneumoniae*. Para ello utilizamos los datos de la imagen de la placa de tórax y del estudio microbiológico y observamos que el 80,6 % de los pacientes con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* presentaba una imagen de condensación en la placa de tórax frente al 37,5 % de los pacientes con serología positiva específica para bacterias atípicas y al 33,3 % de los pacientes negativos como se observa en la figura 5. Así, al valorar la presencia de condensación en la imagen de la placa de tórax se obtiene un odds ratio (OR) de 11,7, con una sensibilidad del 83,9 %, una especificidad de 69,2 %, un VPP de 76,5 y un VPN de 78,3 de diagnóstico de certeza de neumonía por *S.pneumoniae*.

Figura 5. Porcentaje de pacientes con imagen de condensación e infiltrados en la placa de tórax en función del estudio microbiológico



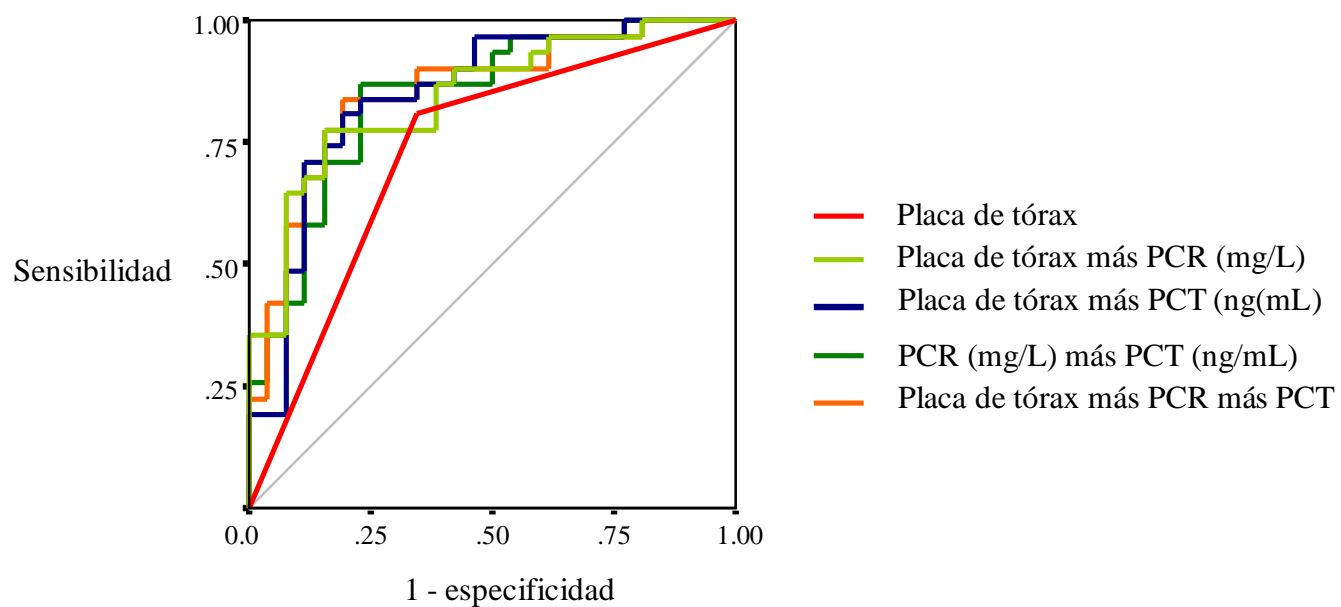


En un intento de mejorar el diagnóstico de una infección de vías respiratorias inferiores de una forma precoz y fiable, se realizó un estudio de regresión logística multivariante entre los marcadores de infección estudiados previamente y que habían presentado mayor capacidad diagnóstica en esta enfermedad, es decir la imagen de la placa de tórax y las proteínas de fase aguda, PCR y PCT. Así, basándonos en los resultados del estudio microbiológico, se obtuvieron unas AUC similares entre la imagen de la placa de tórax más la PCR y la imagen de la placa de tórax más la PCT, 0,844 y 0,847, respectivamente, como queda reflejado en la tabla 10 y que describían las curvas ROC representadas en la figura 6. Es importante destacar que el AUC que presenta la suma de la PCR (mg/L) más PCT (ng/mL) es similar a las AUC de las combinaciones anteriores, al igual que el AUC de la suma de los tres parámetros. Se realizó también el análisis estadístico para calcular el OR de la imagen de la placa de tórax más la PCR y la imagen de la placa de tórax más la PCT y los resultados fueron 4,5 y 8,2, respectivamente.

Tabla 10. Areas bajo la curva de las combinaciones de los marcadores de infección utilizando como criterio de clasificación el estudio microbiológico, pacientes con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* versus pacientes con serología positiva para bacterias atípicas y pacientes negativos

Marcador	AUC (Intervalo de confianza)
Placa de tórax	0,730 (0,594 – 0,866)
Placa de tórax + PCR (mg/L)	0,844 (0,742 - 0,945)
Placa de tórax + PCT (ng/mL)	0,847 (0,742 - 0,953)
PCR (mg/L) + PCT (ng/mL)	0,841 (0,737 - 0,945)
Placa de tórax + PCR (mg/L) + PCT (ng/mL)	0,854 (0,753 – 0,954)

Figura 6. Curvas ROC del estudio de regresión logística multivariante con la imagen de la placa de tórax, la PCR, la PCT y sus combinaciones



Se evaluó la utilidad de la determinación semicuantitativa del Ag del neumococo en la orina de 49 niños de los que se conocía el agente etiológico por el estudio microbiológico y por la evolución del paciente. De los 31 pacientes con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae*, 19 (70,4 %) de ellos fue también positivo para esta prueba, al igual que un 26,3 % de los pacientes con serología positiva para bacterias atípicas y los pacientes negativos. De manera que al analizar la capacidad diagnóstica de la determinación del Ag del neumococo en la orina, esta prueba presentaba una sensibilidad del 70,4 %, una especificidad del 50,0 %, un VPP de 55,9 % y un VPN del 65,2 %.

#### 4.4 Neonatos ingresados en UCI

Se estudiaron 227 recién nacidos de embarazos únicos, 125 niños y 102 niñas, con edades comprendidas entre los 0 y 41 días. Del total de los pacientes 90 nacieron por cesárea, 125 eran prematuros, 27 eran CIR, 40 requirieron una reanimación avanzada (4 ó 5) y 51 tenían ictericia. El percentil 25 para la edad era de un día en el momento del estudio y un peso de 1.648 gramos. Es importante destacar el alto porcentaje de pacientes prematuros incluidos en el mismo, así como la gran variación en el peso de los recién nacidos que oscila desde los 535 gramos hasta los 4.420 gramos (tabla 11).

Se calculó la media y la desviación estándar de los valores de los marcadores de infección utilizados habitualmente en la práctica clínica como son los leucocitos, el valor absoluto y el porcentaje de neutrófilos, el índice de inmadurez y la PCR, junto con la PCT, en cada grupo de los recién nacidos, y se estudió si existían diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Hay que destacar la elevada concentración media de PCR y de PCT tanto en el grupo denominado sospecha de infección no confirmada (16,63 mg/L y 13,77 ng/mL, respectivamente) como en el grupo de infectados confirmados (37,54 mg/L y 12,61 ng/mL, respectivamente), como queda reflejado en la tabla 12.

Debido a la edad de la población estudiada en esta parte del estudio y como se ha mencionado previamente, dado el elevado número de neonatos prematuros, se determinó la creatinina y la bilirrubina total con la finalidad de conocer la función renal y hepática respectivamente de los pacientes de este grupo, considerando un paciente icterico cuando el valor de bilirrubina total fuera mayor de 14 mg/dL. La media de la concentración de creatinina obtenida fue de 0,69 mg/dL con una desviación estándar de 0,33.

Tabla 11. Distribución de ciertas variables estudiadas en los grupos de neonatos

CONDICION	Número de casos (%)	Prematuros (%)	CIR (%)	PESO (gramos)		
				Media $\pm$ desviación estándar	Mínimo	Máximo
No infectado	130 (57,2)	81 (62,3)	17 (13,1)	2.301 $\pm$ 803	600	3.820
Infección dudosa	26 (11,5)	8 (30,8)	4 (15,4)	2.691 $\pm$ 929	665	4.000
Infección dudosa sin hemocultivo	3 (1,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	3.300 $\pm$ 496	2.830	3.820
Sospecha de infección no confirmada	32 (14,1)	13 (40,6)	2 (6,3)	2.675 $\pm$ 1.012	740	4.420
Infectado	36 (15,9)	23 (63,9)	4 (11,1)	1.842 $\pm$ 1.148	535	3.820

Tabla 12. Media y desviación estándar de los marcadores de infección en los grupos de neonatos

<b>CONDICION</b>	Leucocitos (x 10 <sup>3</sup> /μL)	Valor absoluto de neutrófilos (x 10 <sup>3</sup> /μL)	Valor porcentual de neutrófilos (%)	Indice de inmadurez	PCR (mg/L)	PCT (ng/mL)
No infectado	12,32 ± 3,53	5,55 ± 3,06	43,02 ± 15,35	0,02 ± 0,03	4,30 ± 13,85	2,05 ± 8,49
Infección dudosa	13,24 ± 5,34	6,68 ± 4,47	47,32 ± 17,45	0,04 ± 0,04	12,09 ± 28,79	3,01 ± 8,54
Infección dudosa sin hemocultivo	21,08 ± 11,52	11,90 ± 9,85	48,26 ± 22,72	0,13# ± 0,12	3,05 ± 3,56	6,41 ± 10,21
Sospecha de infección no confirmada	24,80* ± 21,23	16,98* ± 17,41	62,80* ± 12,84	0,11* ± 0,08	16,63* ± 31,84	13,77* ± 34,28
Infectado	16,51 ± 11,17	10,70 <sup>&amp;</sup> ± 8,64	60,22 <sup>&amp;</sup> ± 17,13	0,12 <sup>&amp;</sup> ± 0,08	37,54 <sup>&amp;</sup> ± 41,13	12,61 <sup>&amp;</sup> ± 28,82

# p < 0.05 entre el grupo de “infección dudosa sin hemocultivo” con el grupo de “no infectados” y el grupo de “infección dudosa”

\* p < 0.05 entre el grupo de “sospecha de infección no confirmada” con el grupo de “no infectados”, el grupo de “infección dudosa” y el grupo de “infección dudosa sin hemocultivo”

& < 0.05 entre el grupo de “infectados” con el grupo de “no infectados”, el grupo de “infección dudosa” y el grupo de “infección dudosa sin hemocultivo”

#### 4.4.1 Estudio de factores perinatales en la población de neonatos no infectados

En el grupo de neonatos clasificado como “no infectado” se estudió la influencia sobre los marcadores de infección estudiados de algunos factores propios de la mujer y del parto como una patología materna (29 casos), si era o no portadora de *S.agalactie* (18 casos), si el tiempo de bolsa rota era superior a 12 horas (73 casos), el tipo de parto (cesárea 55 y vaginal 74) y si había existido fiebre materna intraparto (3 casos), y otros factores propios del neonato como la prematuridad (81 casos), el CIR (17 casos), corioamnionitis (6 casos), el pH de arteria umbilical  $\leq 7.2$  (51 casos), la reanimación avanzada (15 casos), el test de Apgar a los 5 minutos  $< 7$  (21 casos), existencia de ictericia (28 casos) y de patología respiratoria (25 casos). Se observó que la única variable de todas las anteriores, tanto las relacionadas con la mujer como con las del neonato, en la que existía una diferencia significativa era la prematuridad, que afectaba a la PCR ( $p < 0,001$ ), a los leucocitos totales ( $p = 0,036$ ), a los neutrófilos totales ( $p = 0,004$ ), al porcentaje de neutrófilos ( $p = 0,012$ ) pero no afectaba a la PCT ( $p = 0,581$ ) ni al índice de inmadurez ( $p = 0,526$ ).

#### 4.4.2 Niveles de PCT y PCR de neonatos no infectados en las primeras horas de vida

Con el objetivo de conocer la evolución de la concentración sérica de dos proteínas de fase aguda, PCT y PCR, se analizó la concentración de las mismas en el grupo de neonatos no infectados en función de las horas de vida del recién nacido, y así se establecieron tres periodos de edad, menos de 24 horas, entre 24 y 48 horas y más de 48 horas, teniendo en cuenta la prematuridad o no del neonato debido a las diferencias estadísticamente significativas existentes en la PCR que se habían demostrado en el apartado anterior. Pese a que dicha diferencia no existía para la PCT, en un primer momento, decidimos estudiarla de la misma manera que la PCR con la finalidad de establecer una homogeneidad en el estudio.

Se observa que en los neonatos prematuros no infectados existen diferencias estadísticamente significativas en los tres intervalos estudiados tanto en la concentración de PCR ( $p = 0,012$ ) como en la PCT ( $p = 0,007$ ), destacando un aumento de la concentración de ambos parámetros en el intervalo 24-48 horas, alcanzando hasta un valor de PCR de 6,62 mg/L y un valor de PCT de 20,95 ng/mL, como se observa en la tabla 13.

Tabla 13. Concentración de PCR y PCT en neonatos nacidos prematuros no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida

Parámetro	Edad del niño	n	Media $\pm$ desviación estándar
PCR (mg/L)	$\leq 24$ horas	25	1,46 $\pm$ 2,81
	24-48 horas	4	6,62 $\pm$ 8,40
	> 48 horas	52	3,26 $\pm$ 11,28
PCT (ng/mL)	$\leq 24$ horas	25	2,55 $\pm$ 5,80
	24-48 horas	4	20,95 $\pm$ 40,83
	> 48 horas	52	0,98 $\pm$ 5,02



Figura 7. Box-and-whiskers plot que representa la concentración de PCR en neonatos nacidos prematuros no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida

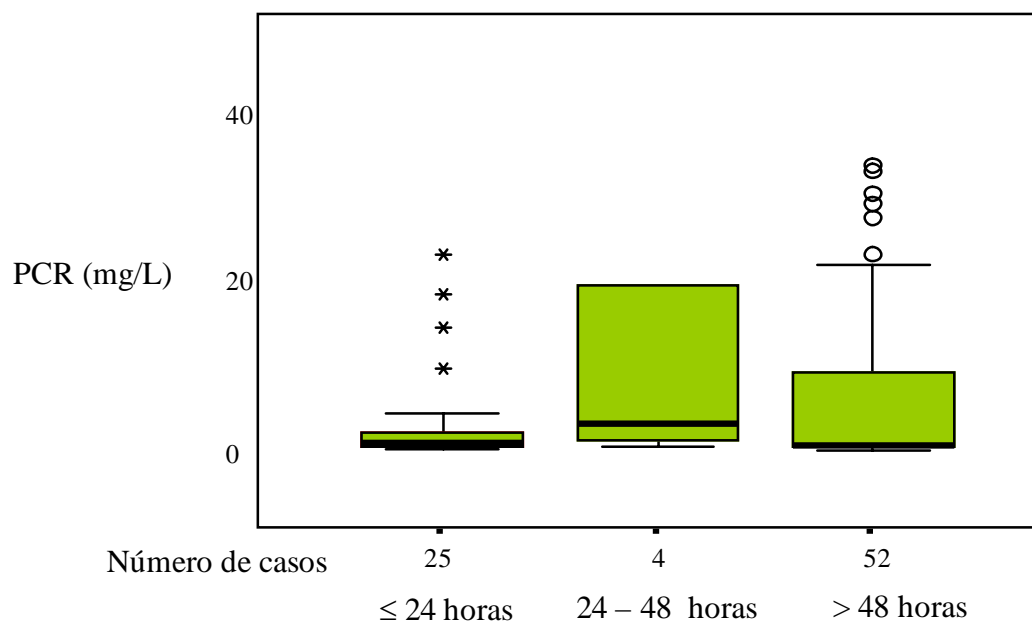
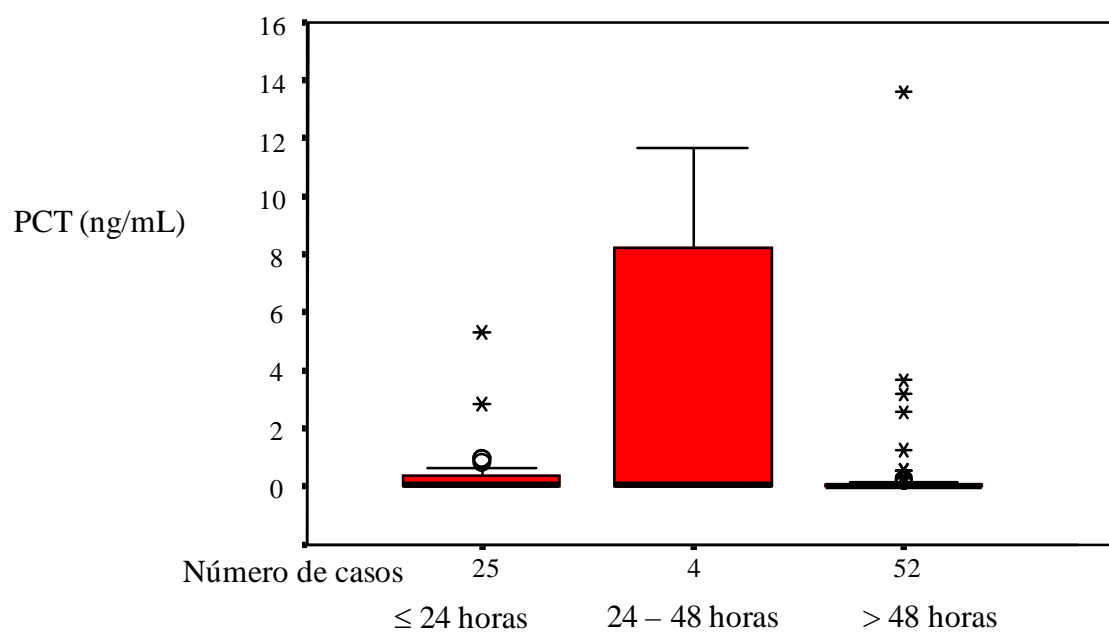


Figura 8. Box-and-whiskers plot que representa la concentración de PCT en neonatos nacidos prematuros no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida



Sin embargo en los neonatos no infectados nacidos a término no se observan diferencias estadísticamente significativas en la concentración de PCR ( $p = 0,759$ ) en el intervalo de  $\leq 24$  horas, debido quizá al escaso número de casos (11) y a la gran desviación estándar (33,05). Por el contrario, en la concentración de PCT si se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ) en los tres intervalos de edad estudiados, presentando valores decrecientes a medida que aumentan las horas de vida del recién nacido, como queda reflejado en la tabla 14.

Tabla 14. Concentración de PCR y PCT en neonatos nacidos a término no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida

Parámetro	Edad del niño	n	Media $\pm$ desviación estándar
PCR (mg/L)	$\leq 24$ horas	11	12,02 $\pm$ 33,05
	24-48 horas	7	3,65 $\pm$ 3,29
	> 48 horas	31	5,44 $\pm$ 14,03
PCT (ng/mL)	$\leq 24$ horas	11	2,12 $\pm$ 2,73
	24-48 horas	7	1,67 $\pm$ 1,98
	> 48 horas	31	1,07 $\pm$ 4,38

Figura 9. Box-and-whiskers plot que representa la concentración de PCR en neonatos nacidos a término no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida

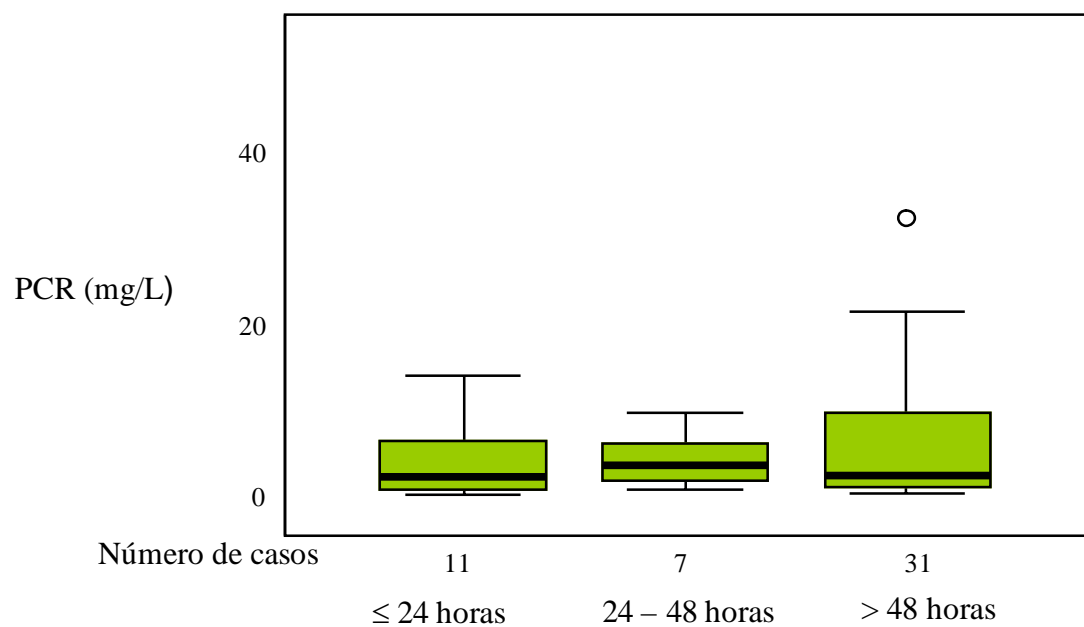
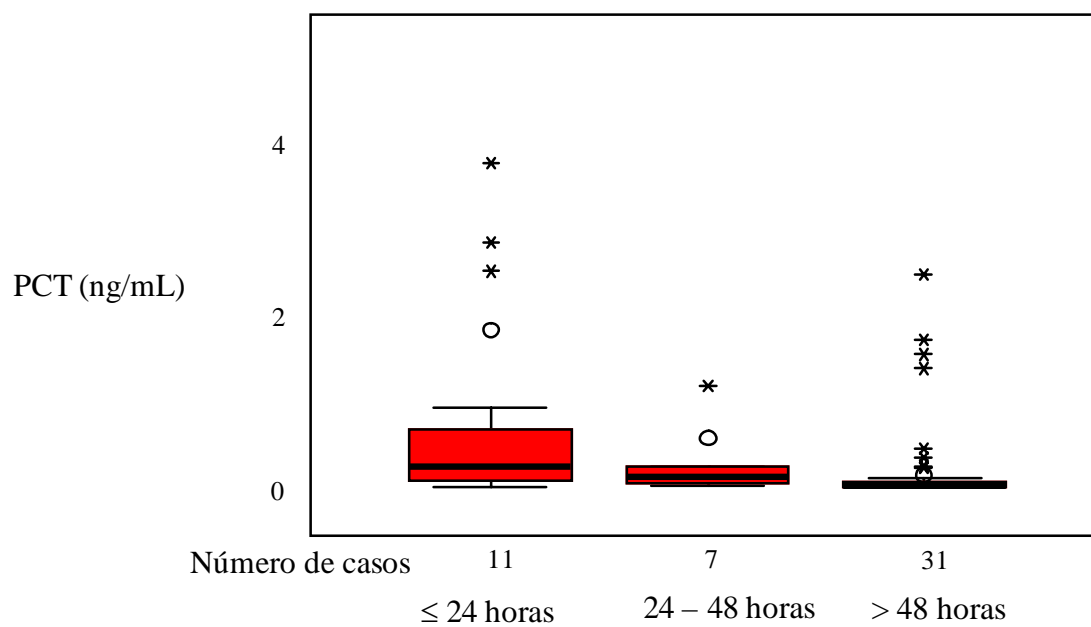


Figura 10. Box-and-whiskers plot que representa la concentración de PCT en neonatos nacidos a término no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida



Dado que no existían diferencias estadísticamente significativas en la concentración de PCT dependiendo de la prematuridad o no del recién nacido, también se estudió la concentración de la PCT en esos mismos intervalos de edad pero sin diferenciar los pacientes según dicha variable. Se observó que con esta clasificación no existían diferencias estadísticamente significativas entre los neonatos de menos de 24 horas de vida y los que tenían entre 24-48 horas ( $p = 0,527$ ), pero estas diferencias si existían entre los neonatos de 24-48 horas y los mayores de 48 horas de vida ( $p < 0,001$ ). Sin embargo, la media de la concentración de PCT aumenta en el intervalo entre 24-48 horas de vida del niño, alcanzando un nivel sérico de 8,68 ng/mL, mientras que en el neonato de  $\leq 24$  horas es de 2,42 ng/mL y en el neonato mayor de 48 horas es de 1,01 ng/mL (tabla 15).

Tabla 15. Concentración de PCT de neonatos no infectados de menos de 24 horas, entre 24-48 horas y más de 48 horas de vida sin tener en cuenta la prematuridad del recién nacido

Parámetro	Edad del niño	n	Media $\pm$ desviación estándar
PCT (ng/mL)	$\leq 24$ horas	36	2,42 $\pm$ 5,02
	24-48 horas	11	8,68 $\pm$ 24,43
	> 48 horas	83	1,01 $\pm$ 4,77

Una vez confirmado en nuestra población de pacientes no infectados la variación fisiológica de las dos proteínas de fase aguda, PCR y PCT, en función de las horas de vida del recién nacido, se realizó el mismo estudio, pero fijando el punto de corte de la edad en 72 horas en un intento de simplificar el manejo de estas proteínas, PCR y PCT, en la práctica clínica habitual, intentando superar el aumento fisiológico del neonato sano. Se observa que los recién nacidos prematuros tienen una concentración media de PCR menor que la de los nacidos a término, y al igual que ocurría en la clasificación anterior existen diferencias estadísticamente significativas en este parámetro en función de las horas de vida ( $\leq 72$  horas *versus*  $> 72$  horas) del neonato prematuro no infectado ( $p = 0,043$ ), que no existen en el neonato nacido a término no infectado ( $p = 0,469$ ). Respecto a la PCT se observan diferencias estadísticamente significativas tanto en los prematuros ( $p = 0,006$ ) como en los nacidos a término ( $p < 0,001$ ) en los intervalos de edad establecidos (tabla 16).

Tabla 16. Concentración de PCR y PCT de neonatos no infectados de menos de 72 horas y de más de 72 horas de vida

Condición	Edad del niño	n	PCR (mg/L) Media $\pm$ ds	PCT (ng/mL) Media $\pm$ ds
Prematuro	$\leq 72$ horas	30	2,11 $\pm$ 4,14	4,92 $\pm$ 15,53
	$> 72$ horas	51	3,31 $\pm$ 11,38	0,99 $\pm$ 5,07
A término	$\leq 72$ horas	22	8,19 $\pm$ 23,36	1,72 $\pm$ 2,23
	$> 72$ horas	27	5,42 $\pm$ 1,12	1,12 $\pm$ 4,7

#### 4.4.3 Estudio de la capacidad diagnóstica de los marcadores de infección

Inicialmente se habían clasificado los pacientes de esta parte del estudio en cinco grupos en función del estudio clínico y del resultado del hemocultivo descrito en el capítulo material y métodos. Sin embargo, dado que carecíamos de la certeza de diagnóstico de infección en los grupos denominados “infección dudosa” e “infección dudosa sin hemocultivo” se descartaron los pacientes pertenecientes a estos dos grupos para el estudio de la capacidad diagnóstica de los marcadores de infección. Se unificaron los grupos denominados neonatos con “sospecha de infección no confirmada” e “infectados” en base a la evolución del paciente y esta agrupación se comparó con el grupo control denominado “no infectados” para el estudio de la capacidad diagnóstica de los marcadores de infección (leucocitos, valor absoluto y porcentaje de neutrófilos, índice de inmadurez, PCR y PCT) en función de la prematuridad o no del recién nacido, debido a las diferencias estadísticamente significativas encontradas en el apartado 4.4.1. Se obtuvieron las AUC de cada uno de los marcadores y las curvas ROC relacionadas.

Se observó que para neonatos prematuros el AUC varía, desde 0,919 presentada por el índice de inmadurez, de 0,855 y 0,812 para la PCR y el % N respectivamente, hasta la PCT que describe un AUC de 0,796 como queda reflejado en la tabla 17. Al extrapolar los valores de los marcadores en la curva ROC correspondiente (figura 11) se observaba que para un índice de inmadurez de 0,04 se conseguía una sensibilidad del 87,5 % y una especificidad del 70,4 %, mientras que si se aumentaba este valor hasta 0,13 se alcanzaba una especificidad del 100 % pero solamente un 50 % de sensibilidad. Cuando se fijaba el punto de corte de la PCR en 0,56 mg/L se obtenía la misma sensibilidad (87,5 %) que con el índice de inmadurez de 0,04 pero la especificidad disminuye hasta un 62 %. No obstante, dado que el valor de 0,56 mg/L para la PCR sérica es demasiado bajo comparándolo con los valores normales de laboratorio, se estudió una concentración de PCR de 3,30 mg/L, con este nuevo valor de PCR se obtuvo una especificidad del 90,1 % con una sensibilidad del 71,9 %. Respecto a la PCT, pese a que su AUC es ligeramente inferior a los anteriores marcadores, al utilizar un punto de corte de 0,52 ng/mL se obtiene una sensibilidad del 87,5 % y una

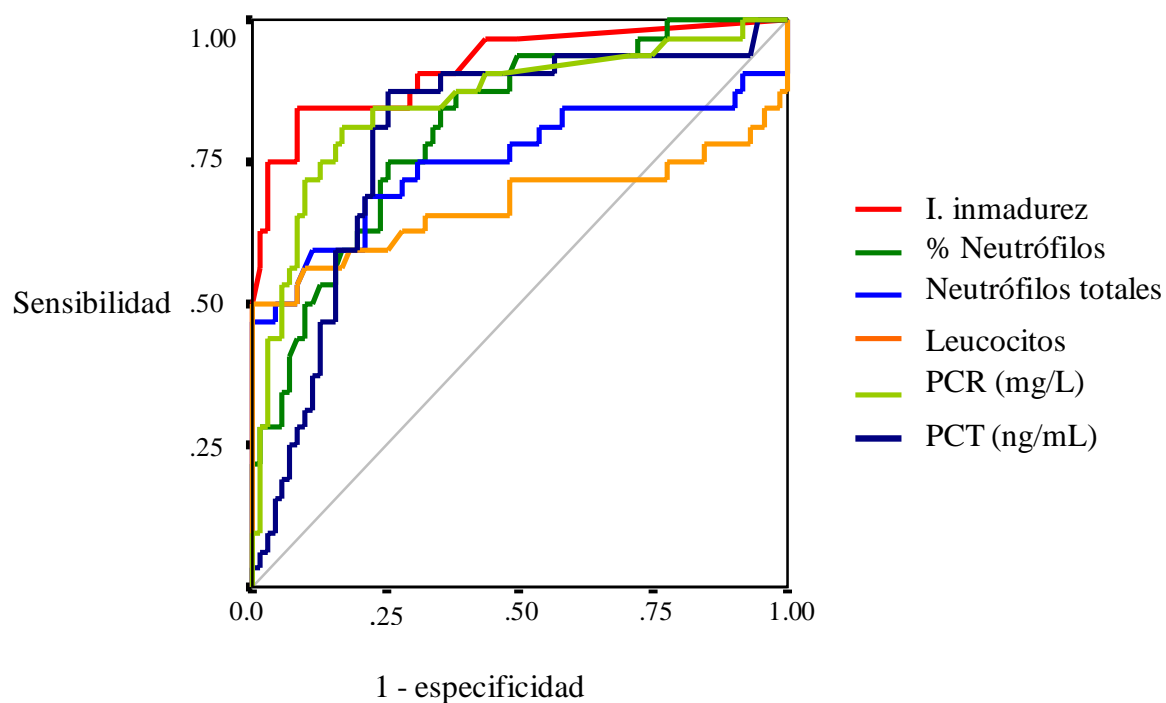


especificidad del 74,6 %, es decir para una misma sensibilidad se obtiene una mayor especificidad que en los marcadores anteriores.

Tabla 17 Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros

Marcador de infección	AUC (Intervalo de confianza)
PCR (mg/L)	0,855 (0,768 - 0,941)
PCT (ng/mL)	0,796 (0,699 - 0,892)
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,675 (0,531 - 0,819)
Neutrófilos totales ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,751 (0,627 - 0,875)
Porcentaje de neutrófilos (%)	0,812 (0,725 - 0,899)
Indice de inmadurez	0,919 (0,857 - 0,982)

Figura 11. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros

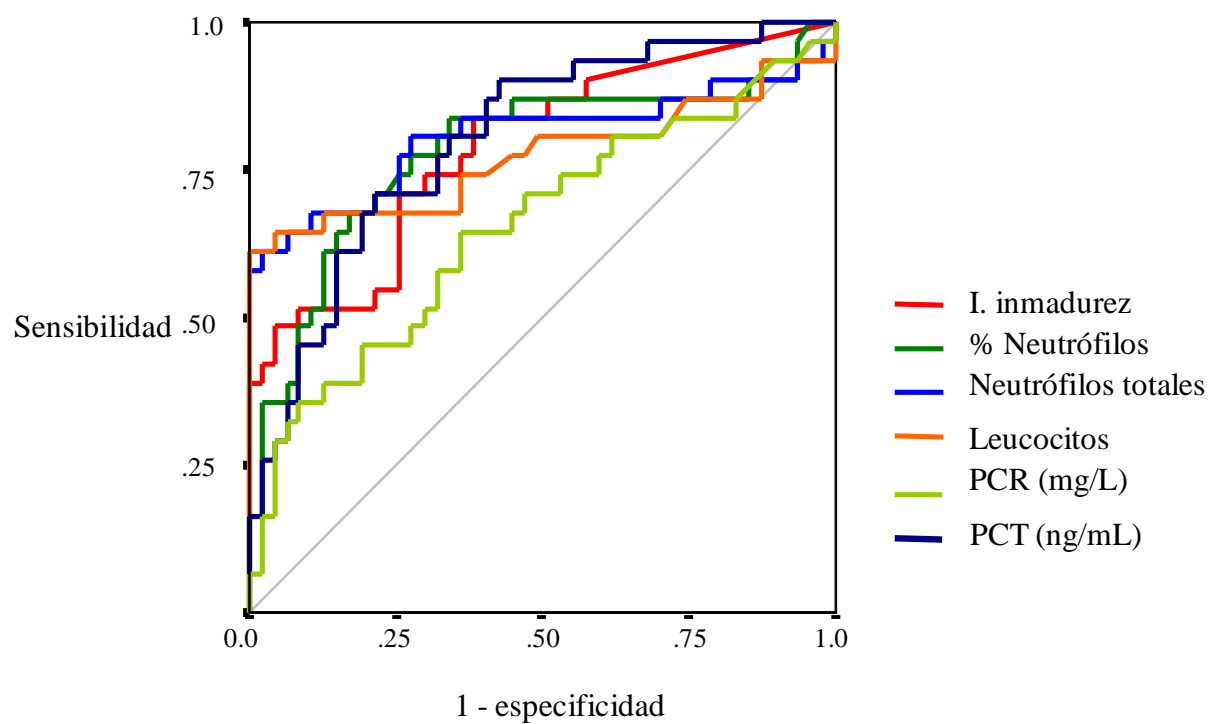


En neonatos nacidos a término las AUC mayores se obtienen para los neutrófilos totales (0,808) y para la PCT (0,802), mientras que el índice de inmadurez y la PCR presentan AUC de 0,789 y 0,655, respectivamente, como se observa en la tabla 18. En la figura 12 se representan las curvas ROC de los parámetros estudiados. Así para un valor de 3.770 neutrófilos/ $\mu\text{L}$  se obtiene una sensibilidad del 90,3 % pero tan solo una especificidad del 21,3 %, a diferencia de la PCT que con una concentración sérica de 0,32 ng/mL se obtiene la misma sensibilidad (90,3 %) pero la especificidad aumenta hasta un 57,4 %. Respecto a la PCR, con un punto de corte de 0,92 mg/L, la sensibilidad es del 80,6 %, sin embargo, la especificidad disminuye hasta un 38,3 %, y con un valor de 0,02 de índice de inmadurez se obtiene una sensibilidad del 83,9 % y una especificidad del 61,7%.

Tabla 18 Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término

Marcador de infección	AUC (Intervalo de confianza)
PCR (mg/L)	0,655 (0,526 - 0,784)
PCT (ng/mL)	0,802 (0,703 - 0,901)
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,774 (0,649 - 0,899)
Neutrófilos totales ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,808 (0,691 - 0,925)
Porcentaje de neutrófilos (%)	0,782 (0,666 - 0,897)
Indice de inmadurez	0,789 (0,683 - 0,894)

Figura 12. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término



Dado que previamente no se habían encontrado diferencias estadísticamente significativas en la PCT ni en el índice de inmadurez en función de la prematuridad, se estudiaron las curvas ROC de estos dos parámetros sin considerar dicha variable y se obtuvieron unas AUC de 0,799 (0,730-0,867) y de 0,856 (0,796–0,916), respectivamente. Al extrapolar la concentración de PCT y el índice de inmadurez en estas curvas ROC, se obtenía una sensibilidad de 90,5 % y una especificidad del 61,9 % con un valor de PCT de 0,32 ng/mL, mientras que para obtener esa misma sensibilidad (90,5 %) se debía de fijar el valor del índice de inmadurez en 0,02 y la especificidad disminuía hasta un 58,5 %.

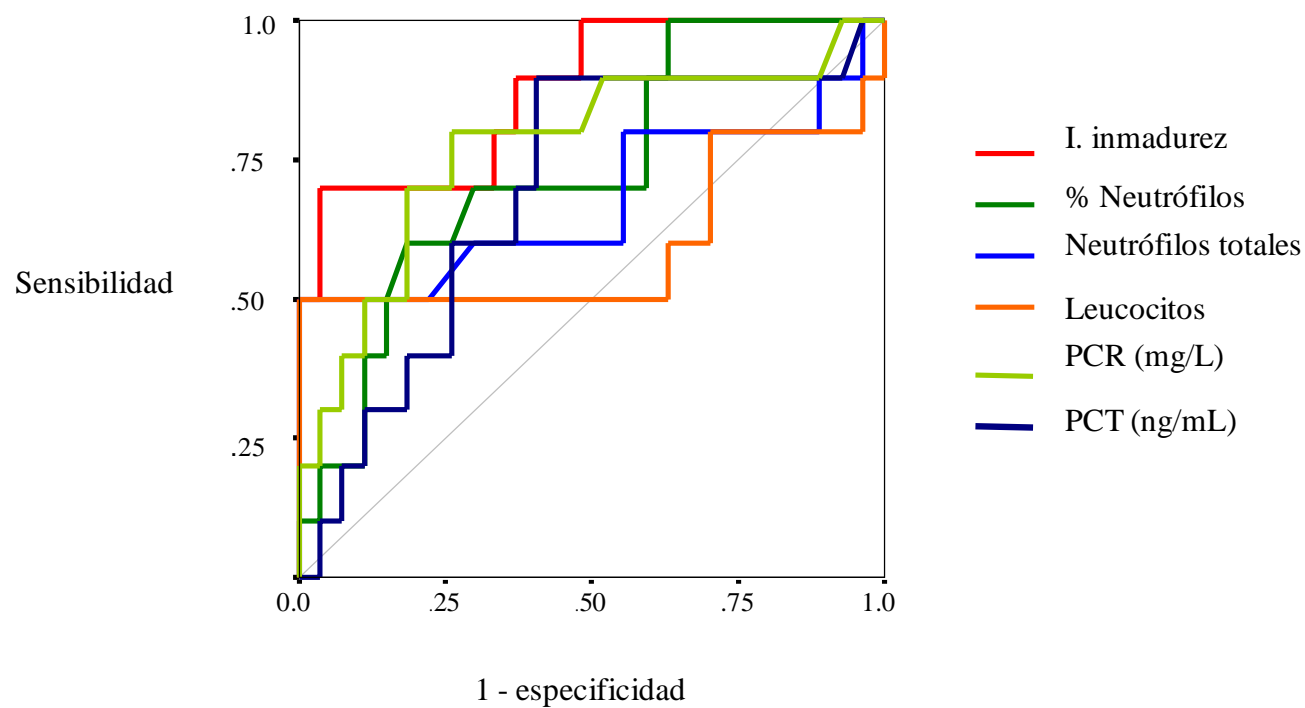
De acuerdo a los resultados del apartado 4.4.2, existe una variación en la concentración de las proteínas de fase aguda, PCR y PCT, en el recién nacido no infectado en función de las horas de vida del mismo. Por ello se calculó la capacidad diagnóstica de los marcadores de infección en neonatos prematuros y nacidos a término, separándolos en menores y mayores de 72 horas de vida.

Según esta clasificación, en los neonatos prematuros de menos de 72 horas de vida, el AUC mayor corresponde al índice de inmadurez (0,874), que con un valor de 0,04 se obtenía un 90 % de sensibilidad y un 63 % de especificidad. Cuando la concentración sérica de la PCR era de 0,55 mg/L, proteína que presentaba una AUC de 0,774, se obtenía una sensibilidad del 90 % pero solamente una especificidad de 48,1 %, mientras que para obtener esa misma sensibilidad (90 %) en la PCT, se alcanzaba una especificidad del 59,3% (superior a la PCR) al utilizar un valor de 0,60 ng/mL para esta proteína, como se observa en la tabla 19 y su curva ROC correspondiente, figura 13.

Tabla 19. Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros de menos de 72 horas de vida

Marcador de infección	AUC (Intervalo de confianza)
PCR (mg/L)	0,774 (0,588 - 0,960)
PCT (ng/mL)	0,694 (0,502 - 0,887)
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,600 (0,337- 0,863)
Neutrófilos totales ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,678 (0,440 - 0,915)
Porcentaje de neutrófilos (%)	0,733 (0,555 - 0,912)
Índice de inmadurez	0,874 (0,746 - 1,002)

Figura 13. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros de menos de 72 horas de vida



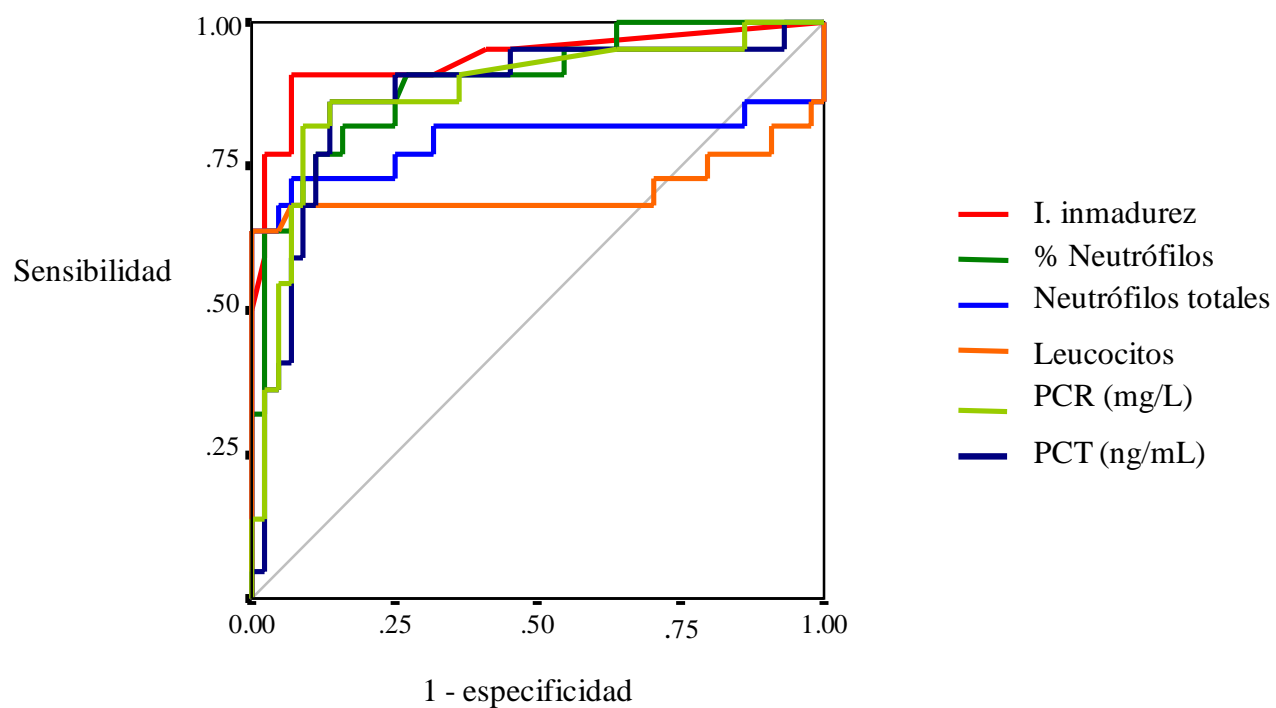
En los neonatos prematuros de más de 72 horas de vida el AUC mayor también corresponde al índice de inmadurez (0,936), que con un valor de 0,07, se obtenía una sensibilidad del 90,9 % y un 93,2 % de especificidad. La PCR, que presentaba una AUC de 0,880, al fijar el punto de corte en 0,51 mg/L se obtenía una sensibilidad del 90,9 % pero una especificidad del 63,6 %, mientras que con un punto de corte de 0,32 ng/mL para la PCT se obtenía esa misma sensibilidad (90,9 %) y la especificidad aumentaba hasta un 75 % (tabla 20 y figura 14).

Tabla 20. Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros de más de 72 horas de vida

Marcador de infección	AUC (Intervalo de confianza)
PCR (mg/L)	0,880 (0,783- 0,978)
PCT (ng/mL)	0,873 (0,772 - 0,974)
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,707 (0,527- 0,887)
Neutrófilos totales ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,793 (0,638 - 0,948)
Porcentaje de neutrófilos (%)	0,896 (0,812 - 0,979)
Índice de inmadurez	0,936 (0,862 - 1,010)



Figura 14. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos prematuros de más de 72 horas de vida

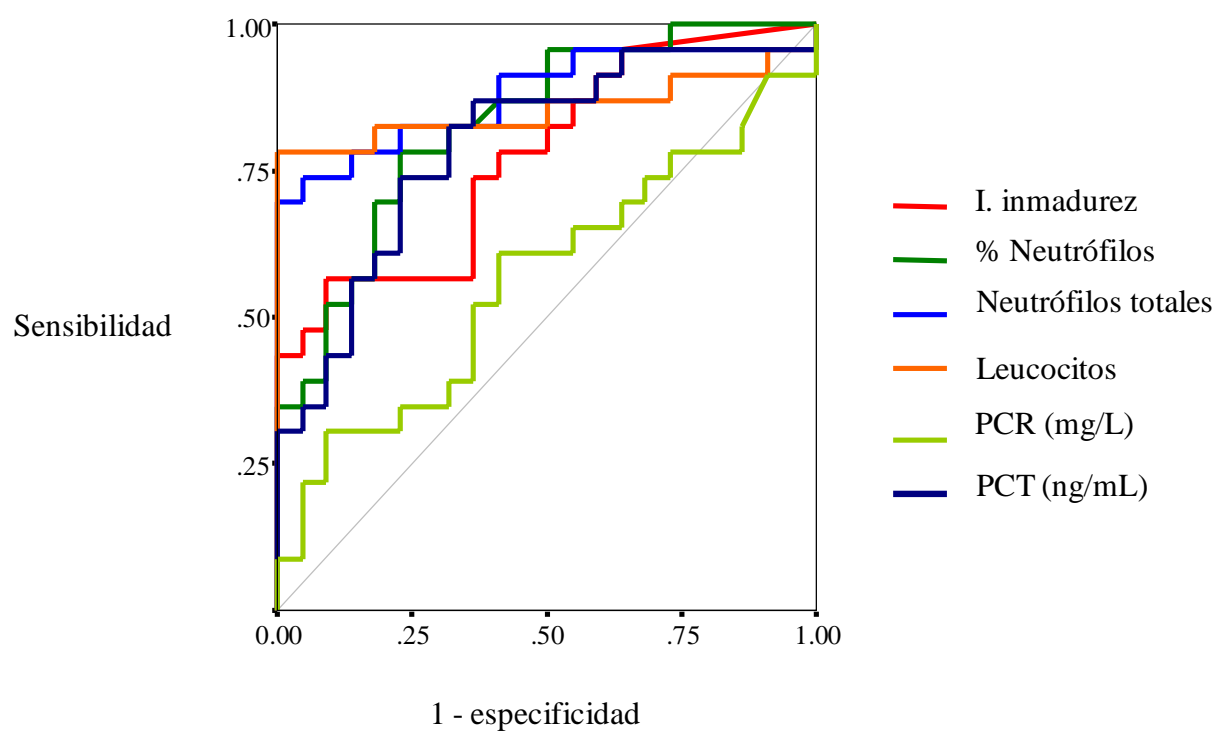


En los neonatos nacidos a término de menos de 72 horas de vida, el índice de inmadurez presentaba una AUC de 0,775, que para un valor de 0,03 se obtenía un 87 % de sensibilidad pero solamente un 45,5 % de especificidad, la PCR, que presentaba una AUC de 0,565, al fijar el punto de corte en 1,08 mg/L se obtenía una sensibilidad de 69,6 % y tan solo un 36,4 % de especificidad, mientras que cuando la concentración de PCT era de 1,14 ng/mL se obtenía un 87 % de sensibilidad y un 63,6 % de especificidad. En este grupo de pacientes, a pesar que los neutrófilos totales presentaban el AUC mayor que la PCT, al analizar los datos se obtenía una sensibilidad similar, de 91,3 % con una especificidad más baja, de 59,1 %, para un valor de 8.360 / $\mu$ L. Tabla 21 y su correspondiente curva ROC, figura 15.

Tabla 21. Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término de menos de 72 horas de vida

Marcador de infección	AUC (Intervalo de confianza)
PCR (mg/L)	0,565 (0,395 - 0,736)
PCT (ng/mL)	0,794 (0,661 - 0,928)
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,856 (0,728 - 0,984)
Neutrófilos totales ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,879 (0,772 - 0,987)
Porcentaje de neutrófilos (%)	0,831 (0,714 - 0,948)
Índice de inmadurez	0,775 (0,640- 0,910)

Figura 15. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término de menos de 72 horas de vida

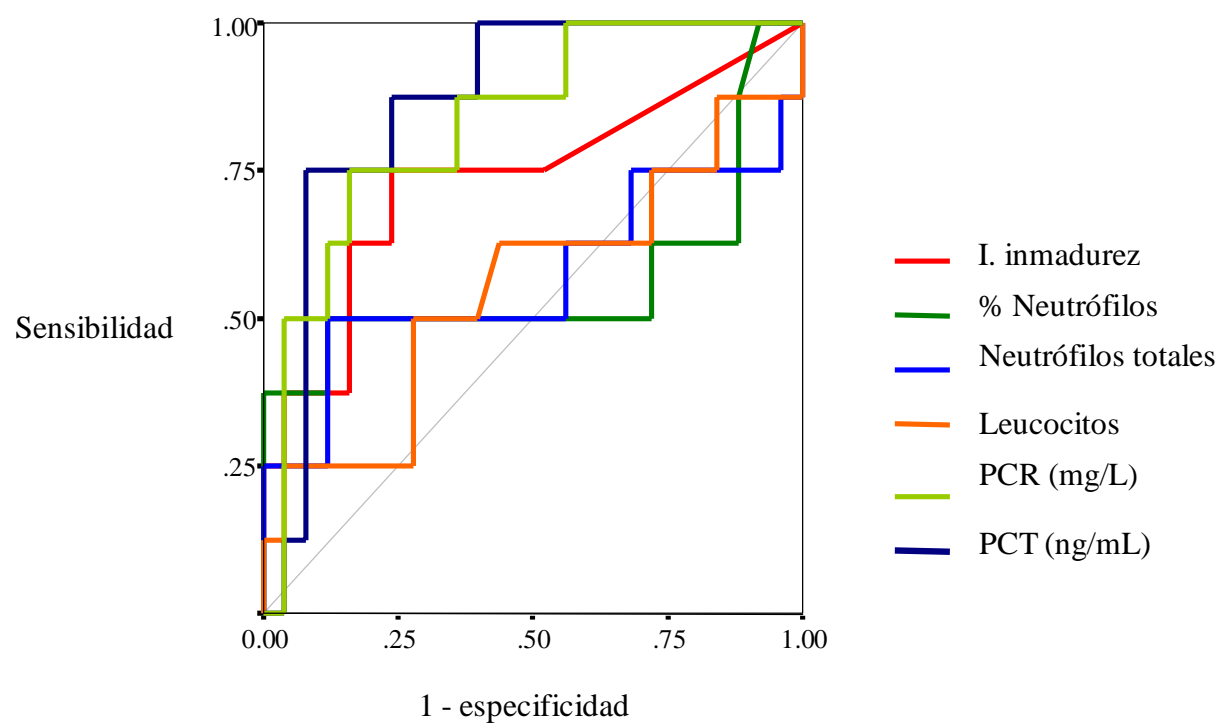


En los neonatos nacidos a término de más de 72 horas, el AUC mayor correspondía a la PCT (0,865), que con una concentración de 0,12 ng/mL se obtenía una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 60 %. A diferencia del índice de inmadurez, que en esta población, presentando un AUC de 0,735, y utilizando un valor de 0,07 se obtenía una sensibilidad del 75 % con una especificidad del 76 %, similar a la PCR, que presentaba una AUC de 0,830, y fijando la concentración en 0,51 mg/L tenía una sensibilidad del 87,5 % y una especificidad de 64 %. Estos resultados están representados en la tabla 22 y su curva ROC correspondiente (figura 16).

Tabla 22 Areas bajo la curva de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término de más de 72 horas de vida

Marcador de infección	AUC (Intervalo de confianza)
PCR (mg/L)	0,830 (0,673 - 0,987)
PCT (ng/mL)	0,865 (0,734 - 0,996)
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,553 (0,294 - 0,811)
Neutrófilos totales ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,570 (0,287 - 0,853)
Porcentaje de neutrófilos (%)	0,563 (0,268 - 0,857)
Índice de inmadurez	0,735 (0,508 - 0,962)

Figura 16. Curvas ROC de los marcadores de infección en neonatos nacidos a término de más de 72 horas de vida



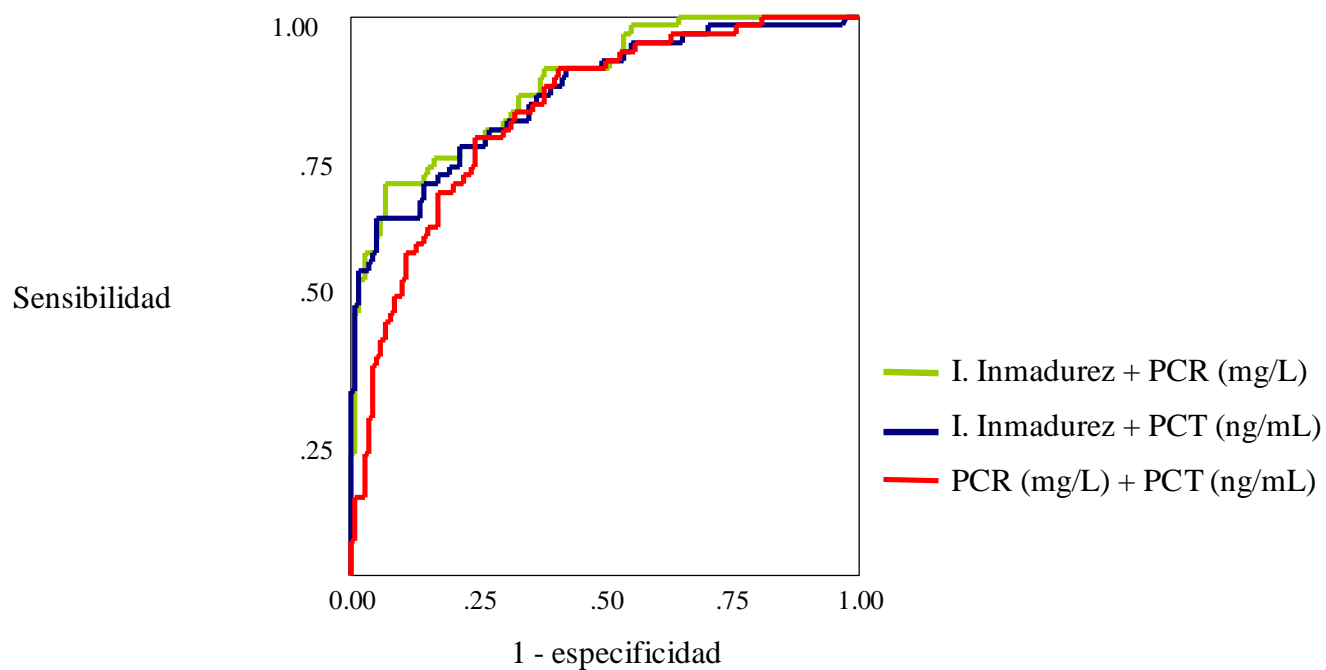
Al igual, que se había realizado previamente y dado que la prematuridad no afectaba a la PCT ni al índice de inmadurez, se realizaron las curvas ROC de estos dos parámetros diferenciando únicamente la edad del niño (menor o mayor de 72 horas) y se obtuvieron unas AUC de 0,760 (0,653–0,868) y de 0,821 (0,728–0,913), respectivamente, en neonatos menores de 72 horas de vida y unas AUC de 0,858 (0,774–0,943) y de 0,879 (0,793–0,966) en los recién nacidos mayores de 72 horas de vida.

Con la finalidad de simplificar el manejo clínico de los parámetros de infección y en un intento de mejorar la capacidad diagnóstica, se realizó un estudio de regresión logística multivariante con los marcadores más relevantes en esta población unificando tanto la prematuridad o no del neonato como la edad del mismo. De manera que si se utilizaba el índice de inmadurez más la PCR se obtenía un AUC de 0,880, similar al AUC que se obtenía cuando se utilizaba el índice de inmadurez mas la PCT (0,862), como se observa en la tabla 23 y en la figura 17 de las curvas ROC correspondientes.

Tabla 23 Areas bajo la curva del estudio de regresión logística multivariante de los marcadores de infección

Combinaciones de los marcadores de infección	AUC (Intervalo de confianza)
Indice de inmadurez + PCR	0,880 (0,829 - 0,931)
Indice de inmadurez + PCT	0,862 (0,805 - 0,920)
PCR + PCT	0,832 (0,772 - 0,892)

Figura 17. Curva ROC del estudio de regresión logística multivariante de los marcadores de infección





#### 4.4.4 Comportamiento de los marcadores de infección en función de la etiología de la infección

Para conocer el comportamiento de los marcadores estudiados en una infección bacteriana respecto de una infección vírica y de una infección fúngica se determinaron las concentraciones de los mismos según el agente responsable de la infección. Es importante destacar que la concentración sérica de la PCT fue casi indetectable ( $0,15 \text{ ng/mL} \pm 0,00$ ) en las infecciones víricas, así como la concentración media de la PCR ( $29,75 \text{ mg/L} \pm 24,63$ ) y de la PCT ( $8,90 \text{ ng/mL} \pm 13,39$ ) más alta en las infecciones fúngicas que en las infecciones bacterianas,  $20,49 \text{ mg/L} \pm 34,52$  y  $7,21 \text{ ng/mL} \pm 22,26$ , respectivamente, como se observa en la tabla 24. Sin embargo, debido al escaso número de pacientes en los grupos de infecciones, 60 infecciones bacterianas, 3 víricas y 5 fúngicas no fue posible establecer una comparación entre los mismos.

Tabla 24. Media y desviación estándar de las concentraciones los marcadores de infección en función de la etiología de la infección

Marcadores de infección	Infección bacteriana (n = 60)	Infección vírica (n = 3)	Infección fúngica (n = 5)
PCR (mg/L)	20,49 ± 34,52	1,40 ± 0,61	29,75 ± 24,63
PCT (ng/mL)	7,21 ± 22,26	0,15 ± 0,00	8,90 ± 13,39
Leucocitos (x 10 <sup>3</sup> /μL)	8,64 ± 12,07	3,06 ± 1,81	16,32 ± 10,41
Neutrófilos totales (x 10 <sup>3</sup> /μL)	50,29 ± 18,85	34,30 ± 22,62	63,28 ± 9,76
Porcentaje de neutrófilos (%)	14,99 ± 14,32	9,19 ± 0,79	25,98 ± 15,31
Índice de inmadurez	0,07 ± 0,07	0,01 ± 0,00	0,10 ± 0,06

#### 4.4.5 Capacidad diagnóstica de los marcadores de infección en una bacteriemia *versus* sepsis

Entre los pacientes que formaban inicialmente los grupos denominados “sospecha de infección no confirmada” e “infectado” se diagnosticaron en base al estudio microbiológico y a la evolución clínica del neonato 19 casos de bacteriemia y 27 casos de sepsis. En estos pacientes se estudió si existían diferencias estadísticamente significativas en los marcadores de infección entre los pacientes de ambos grupos (tabla 25), así como la capacidad diagnóstica de cada uno de ellos. Se observó que las AUC de los marcadores son similares tanto en los neonatos prematuros como en los neonatos nacidos a término, siendo superior la capacidad diagnóstica de todos los marcadores en los recién nacido a término que describen un AUC alrededor de 0,750 frente a la de los neonatos prematuros que se sitúa en torno a 0,600, como queda reflejado en la tabla 26.

Tabla 25. Media y desviación estándar de los marcadores de infección en pacientes diagnosticados de sepsis y de bacteriemia

Marcador de infección	Bacteriemia	Sepsis
PCR (mg/L)*	11,87 ± 21,94	38,16 ± 43,51
PCT (ng/mL) *	3,35 ± 8,62	13,35 ± 30,47
Leucocitos (x 10 <sup>3</sup> /μL)	11,77 ± 4,46	16,72 ± 11,57
Neutrófilos totales (x 10 <sup>3</sup> /μL) *	5,35 ± 3,77	10,77 ± 9,02
Porcentaje de neutrófilos (%)*	42,63 ± 18,25	58,86 ± 17,10
Indice de inmadurez*	0,05 ± 0,04	0,13 ± 0,09

\* p < 0.05

Tabla 26. Areas bajo la curva de los marcadores de infección de pacientes con bacteriemia *versus* sepsis en función de la prematuridad del recién nacido

Marcador de infección	AUC (Intervalo de confianza)	
	Neonatos prematuros	Neonatos a término
PCR (mg/L)	0,756 (0,575 - 0,937)	0,600 (0,318 - 0,882)
PCT (ng/mL)	0,787 (0,607 - 0,968)	0,617 (0,312 - 0,921)
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,692 (0,493 - 0,891)	0,633 (0,354 - 0,913)
Neutrófilos totales ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0,744 (0,560 - 0,929)	0,583 (0,278 - 0,889)
Porcentaje de neutrófilos (%)	0,769 (0,588 - 0,951)	0,700 (0,416 - 0,984)
Índice de inmadurez	0,769 (0,591 - 0,948)	0,675 (0,406 - 0,944)

También se calculó la capacidad diagnóstica de la PCT y del índice de inmadurez sin diferenciar la prematuridad del recién nacido, presentando un AUC de 0,725 y 0,734, respectivamente. Se observó que para una concentración de 2,10 ng/mL de la PCT se obtenía una sensibilidad del 78,9 % con una especificidad del 66,7 %, similar al índice de inmadurez que para un valor de 0,10 se obtenía una sensibilidad y especificidad del 78,9 % y del 55,6 %, respectivamente.

## **5. DISCUSSION**

## 5 DISCUSION

La fiebre es un síntoma frecuente, especialmente en la población pediátrica, más concretamente en niños menores de 3 años y, sobre todo en neonatos. Aproximadamente en el 20 % de los niños con fiebre, esta es de origen desconocido y, aunque muchos de ellos padecen una enfermedad vírica benigna, los niños menores de 3 años tienen mayor riesgo de contraer una infección bacteriana grave. En numerosas ocasiones el diagnóstico de infección en este grupo de pacientes es complicado debido a que los signos de infección se confunden con los de una reacción inflamatoria, los marcadores de infección no son específicos y a que no es desdeñable el número de cultivos negativos en pacientes infectados. Hay que añadir que en el paciente neonato la dificultad diagnóstica adquiere mayor relevancia debido muy probablemente a que tras el nacimiento se produce un periodo de transición entre el útero y el mundo exterior a través de cambios metabólicos fisiológicos que desencadenan una respuesta inflamatoria aguda causando la liberación de reactantes de fase aguda, aumentando inicialmente la concentración de la IL-6 y más tarde la concentración de la PCR, la PCT, y disminuyendo la concentración de la prealbúmina. Como consecuencia de estas dificultades se puede producir un retraso en el diagnóstico y en el tratamiento, agravando el pronóstico del paciente<sup>296, 297, 298</sup>.

El tratamiento antibiótico es necesario pero es muy importante limitarlo a los pacientes que lo precisen y con mayor riesgo de infección, ya que una terapia innecesaria podría contribuir a aumentar los efectos adversos de los antibióticos, como son la toxicidad en el propio paciente y en la población en general, el aumento de las resistencias bacterianas, el tiempo de hospitalización, los costes sanitarios y la preocupación paterna<sup>299, 300</sup>. Por eso, uno de los objetivos fundamentales del pediatra es discernir entre la existencia o no de una infección y conocer si dicha infección es vírica, fúngica o bacteriana con el objetivo de iniciar un tratamiento específico adecuado y evitar, en la medida de lo posible cualquier tratamiento innecesario.

Esta preocupación de los clínicos por disponer de una prueba objetiva, fiable, disponible 24 horas y de tiempo de respuesta rápido, involucra muy directamente a los profesionales del Laboratorio Clínico, especialmente a los del Laboratorio de Urgencias en el que se ha realizado el estudio y que, como en nuestro caso, deberán poner a

disposición de los clínicos las pruebas diagnósticas de procesos infecciosos que presenten mayor sensibilidad y especificidad frente a la enfermedad.

### 5.1 Valores de normalidad de marcadores de infección en la población pediátrica

Uno de los objetivos de este trabajo fue conocer las concentraciones de la PCT en los niños sanos de nuestro entorno sanitario. Para ello se seleccionaron 21 niños sanos, con edades comprendidas entre los 9 meses y medio y los 13 años y medio que acudían a la Unidad de extracciones del Hospital Infantil para realizarse un estudio preoperatorio con motivo de una cirugía menor de causas ajenas a enfermedades inflamatorias y/o infecciosas. En estos niños se cuantificaron los marcadores de infección al uso (población leucocitaria y PCR) y se vio que dichas concentraciones estaban dentro de los rangos de normalidad establecidos por el Laboratorio. Las concentraciones séricas de la PCT ( $0,04 \pm 0,03$  ng/mL), similares a las descritas en la literatura<sup>145</sup>. En este grupo del estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en función del sexo del niño en ninguno de los marcadores de infección estudiados. No obstante, sí encontramos una media superior en la PCR de los niños ( $1,68 \pm 1,12$  mg/L) frente a la de las niñas ( $0,87 \pm 0,90$  mg/L).

Asimismo, previo a plantear la PCT como posible marcador de infección bacteriana neonatal, quisimos conocer los rangos de normalidad en nuestra población, es decir neonatos sanos nacidos a término. Se seleccionaron 18 mujeres sanas con embarazo controlado cuyos recién nacidos fueran clínicamente sanos y a término, a los que se les tomó muestra de sangre de cordón umbilical, y se les determinó la PCT. No se observó ninguna alteración respecto a los valores de normalidad habituales, ya que la media de la concentración de PCT fue de 0,22 ng/mL. Como se ha referido, 3 mujeres eran portadoras de *S.agalactie* y, a pesar de que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, la concentración media de PCT de sus recién nacidos fue inferior a la media de la concentración de los recién nacidos de mujeres no portadoras. De manera similar, se encontró una moderada disminución de la concentración sérica de PCT en los recién nacidos de mujeres con más horas de bolsa rota. Estas diferencias no significativas podrían obedecer al tratamiento antibiótico

profiláctico intraparto (penicilina o eritromicina) que pudo inhibir la síntesis de la PCT. En este grupo de pacientes tampoco se encontró asociación entre la concentración de PCT y el sexo del recién nacido.

Con objeto de conocer la cinética de las proteínas de fase aguda en los primeros días de vida del recién nacido, se determinó la concentración de PCR y de PCT en función de la prematuridad o no del neonato y de las horas de vida en los intervalos de edad de menos de 24 horas, entre 24–48 horas y más de 48 horas en el grupo de neonatos no infectados (n=130). Se observó que en los neonatos nacidos a término no existían diferencias estadísticamente significativas entre  $\leq$  de 24 horas y 24–48 horas en los valores de la PCR ( $p = 0,759$ ) tal vez debido al escaso número de casos y a la gran desviación estándar obtenida. Sin embargo, sí se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de PCR de los neonatos nacidos a término mayores de 48 horas y los tres grupos de neonatos prematuros. Estos resultados hasta ahora no descritos, podrían modular la interpretación de la concentración de PCR del recién nacido.

Por otro lado, la concentración sérica de PCT presentó diferencias estadísticamente significativas en todos los rangos de edad estudiados, tanto en los neonatos nacidos a término como en los nacidos prematuros. Es importante destacar que el pico fisiológico observado en las 24–48 horas de vida descrito por algunos autores<sup>282</sup> tiene lugar tanto en la PCR como en la PCT, pero solamente en el grupo de neonatos prematuros, ya que en los neonatos a término las concentraciones de estas proteínas disminuyen progresivamente a lo largo de los tres periodos de edad estudiados. También se observó que la concentración media de PCR en los neonatos prematuros de menos de 24 horas fue inferior a la de los neonatos nacidos a término de esa misma edad, 1,46 mg/L y 12,02 mg/L, respectivamente, acaso debido a que el parto en sí mismo podría provocar una reacción inflamatoria sistémica en el recién nacido, que probablemente aumentaría las proteínas de fase aguda. Sin embargo, en el neonato prematuro tal vez debido a su inmadurez, no tiene totalmente desarrollada la síntesis proteica hepática o quizá los aminoácidos se desvíen a la síntesis de proteínas estructurales. No obstante, a pesar de que la PCT es también una proteína en fase aguda, sus niveles medios, tanto en los prematuros como en los nacidos a término de menos de 24 horas es similar, 2,55 ng/mL y 2,12 ng/mL, respectivamente. Esta analogía de los



resultados en las concentraciones de PCT entre las dos poblaciones, prematuros y no prematuros, podría apuntar a la síntesis extrahepática de la misma, es decir la posibilidad de síntesis leucocitaria y/o pulmonar<sup>124, 126</sup>. Exceptuando el grupo de neonatos prematuros de 24-48 horas de vida, es importante resaltar la rápida disminución de la concentración de PCT a lo largo de los periodos de edad estudiados, hecho que no se observa en la PCR, probablemente como consecuencia del mayor tiempo de semivida de la PCR respecto de la PCT<sup>141</sup>. El retorno precoz de los niveles de PCT a la normalidad con respecto a los de la PCR, podría otorgar a la PCT un papel relevante en el diagnóstico temprano de la infección neonatal.

Al analizar los resultados obtenidos en los niños sanos, grupo con edades comprendidas entre 9 meses y medio y 13 años y medio y grupo de recién nacidos a término se observó que, la media de la concentración de PCT se encontraba dentro de los rangos de normalidades ambos grupos, aunque en el grupo de neonatos dicha concentración es superior a la encontrada en el grupo de no neonatos (0,22 ng/mL y 0,04 ng/mL, respectivamente). Esta diferencia podría deberse a que, como he mencionado previamente, el nacimiento en si mismo provocaría una liberación de reactantes en fase aguda.

En relación a los valores de normalidad en el recién nacido, es importante destacar la diferencia en la concentración media de la PCT de los recién nacidos sanos a término (0,22 ng/mL), muestra de sangre de cordón umbilical, respecto a la de los neonatos ingresados en la UCIN del grupo no infectados de menos de 24 horas de vida, tanto en niños prematuros (2,55 ng/mL) como en niños nacidos a término (2,12 ng/mL), muestra de sangre obtenida por venopunción. Desconocemos el por qué de estas diferencias en las concentraciones de PCT entre ambos grupos, pero podría obedecer a la precocidad de la determinación en la muestra de sangre de cordón bien por que, dado que la toma de muestra se realizó antes de las 6 horas del comienzo del estímulo inflamatorio y aún no se hubiera sintetizado la PCT, o bien porque la PCT medida en sangre de cordón reflejara en parte la concentración de PCT materna. Por otro lado y a pesar de que los 130 neonatos pertenecían al grupo denominado no infectados, estrictamente no formaban parte de una población normal ya que tras el parto fueron ingresados en la UCIN por diversas causas (prematuridad, CIR, riesgo de infección,...etc).

## 5.2 Pacientes con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores

La neumonía es una enfermedad frecuente en nuestro medio tanto de origen nosocomial (NS) como adquirida en la comunidad (NAC), como se ha mencionado previamente la casuística de esta enfermedad se sitúa en torno al 40 %. Diversos estudios estiman que entre un 15–20 % de los pacientes con ventilación mecánica desarrollan una neumonía, siendo ésta una de las infecciones nosocomiales que se asocia con una mayor tasa de mortalidad, aumento de estancia hospitalaria y, por tanto mayor coste económico. Actualmente no existe un acuerdo universal respecto a la prueba diagnóstica considerada estándar de oro para diferenciar las diversas etiologías infecciosas de la neumonía, además conocer el agente causal de la infección de una forma rápida y específica es difícil, debido a que la fiabilidad de las pruebas serológicas para bacterias y virus es variable, los procedimientos más invasivos para extracción de líquido pulmonar y posterior cultivo no se realizan en la práctica diaria de rutina, existe un solapamiento entre los síntomas y signos y, sobre todo en el paciente pediátrico, se puede confundir una infección pulmonar con otros problemas respiratorios como el asma o bronquitis<sup>301, 302</sup>. Por todos estos motivos existe la necesidad de encontrar un marcador precoz y fiable que enfoque el diagnóstico y permita la administración de un tratamiento etiológico específico en esta patología<sup>303</sup>.

A pesar que las diferencias interobservador en la imagen de la placa de tórax pueden ser significativas, la imagen de condensación en la misma está considerada como el mejor marcador diagnóstico de neumonía por *S.pneumoniae* en niños<sup>304</sup>. De manera que inicialmente en nuestro estudio se consideró dicha imagen como diagnóstico de certeza de neumonía por *S.pneumoniae*, mientras que una imagen de infiltrados enfocaba el diagnóstico hacía una neumonía vírica o neumonía causada por bacterias atípicas.

A los 79 niños con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores incluidos en el estudio y susceptibles de padecer una NAC, se les determinaron los marcadores de infección (valor absoluto de neutrófilos, PCR y PCT) y la capacidad diagnóstica de los mismos a través del AUC de cada uno de ellos en dicha enfermedad. Las AUC obtenidas en los tres parámetros eran similares, 0,743 para el valor absoluto

de neutrófilos, 0,825 para la PCR y 0,740 para la PCT, sin embargo, la sensibilidad y la especificidad variaba considerablemente de unos parámetros a otros. Cuando se utilizaba un punto de corte de 6.900 neutrófilos/ $\mu$ L se conseguía muy buena sensibilidad (90,2 %) pero la especificidad era tan solo de un 42,1 %, comportamiento similar a la PCR que con una concentración de 59,03 mg/L presentaba una sensibilidad del 92,7 % y una especificidad del 65,8 %. La PCT se comportaba de una manera ligeramente diferente ya que con una concentración de 1,68 ng/mL se obtenía una sensibilidad y una especificidad del 70,7 % y del 65,8 % respectivamente. De manera que con el punto de corte de 6.900 neutrófilos/ $\mu$ L, se administraba tratamiento antibiótico innecesario al 57,9 % de los niños incluidos en el estudio, mientras que con una concentración de PCR de 59,02 mg/L y de PCT de 1,68 ng/mL se disminuía la administración de antibioterapia innecesaria hasta un 34,2 %.

A pesar de que cuando se utilizaba la concentración de PCR o de PCT como marcador de neumonía por *S.pneumoniae* se conseguía una disminución en el tratamiento antibiótico, un valor de PCR de 59,03 mg/L es, quizá, demasiado bajo para poder establecer un diagnóstico de neumonía bacteriana, ya que la media de la concentración de PCR en los niños de nuestro estudio con infiltrados en la imagen de la placa de tórax era de  $73,19 \pm 81,35$  mg/L, estando descrito que algunos virus son responsables de concentraciones de PCR de hasta 100 mg/L, y respecto a la PCT, algunos autores fijan el punto de corte de esta proteína alrededor de 2 ng/mL para una infección bacteriana localizada. Teniendo en cuenta estas consideraciones, se aumentó el punto de corte de la PCR hasta 90,00 mg/L y el de la PCT hasta 2,23 ng/mL, obteniéndose una especificidad en ambos parámetros del 71,1 % y una sensibilidad del 80,5 % en la PCR y del 68,3 % en la PCT. De manera que con estos nuevos puntos de corte conseguíamos disminuir el tratamiento antibiótico innecesario hasta un 28,9 %.

El inconveniente que genera utilizar una concentración de PCR de 90,00 mg/L, es que aún es un valor que se puede observar en una infección de vías respiratorias inferiores causada por virus o por bacterias atípicas, dado que existe un solapamiento de las concentraciones de PCR a esos niveles entre las distintas etiologías de neumonía.

Una vez conocido que la concentración de PCT en nuestra población pediátrica sana era similar a la descrita en muchos estudios<sup>145</sup> y que en los últimos años se ha

propuesto a la PCT como marcador específico de infección bacteriana, se esperaba que en esta parte de nuestro estudio la PCT fuera el marcador de neumonía causada por *S.pneumoniae*, asimismo se podría conocer el comportamiento de la concentración de PCT sérica en un paciente con una neumonía causada por bacterias atípicas (*Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*).

A 57 niños de los seleccionados se les realizó un estudio microbiológico, siendo el hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* en el 54,4 % de los casos, serología específica de bacterias atípicas positiva en el 14,0 % y el 31,6 % restante negativo para las pruebas microbiológicas anteriores. Estos niños fueron agrupados en función de los resultados del estudio microbiológico y se valoró la edad, los marcadores de infección (valor absoluto de neutrófilos, PCR y PCT) y la fiebre de cada grupo. Aunque en todos los parámetros estudiados existen diferencias estadísticamente significativas, es importante destacar el tipo de neumonía en función de la edad como describen muchos autores, presentándose más frecuentemente las bacterias atípicas en niños de más edad (niños con una media de edad de 6,25 años) frente a la neumonía causada por *S.pneumoniae* o negativa en niños de apenas 2 años de edad (niños con una media de edad de 2,41 años y de 2,89 años, respectivamente) <sup>236, 238</sup>. También es importante destacar la media de la concentración de PCT, obteniéndose un valor de 0,98 ng/mL en los niños con serología positiva específica de bacterias atípicas frente a un valor de 12,12 ng/mL en los niños con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae*, y a las encontradas en los niños con hemocultivo y serología específica de bacterias atípicas negativos, cuya media de la concentración era de 3,74 ng/mL. A diferencia de lo descrito en la literatura científica, en nuestro trabajo la media de la concentración de la PCT sérica en los niños con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae* es doce veces superior a la media de la concentración sérica de la PCT en los niños con serología positiva específica de bacterias atípicas, y por tanto dicho marcador parece tener capacidad discriminante entre ambas etiologías <sup>234, 236</sup>.

Desconocemos el por qué de las diferencias de la PCT entre bacterias atípicas y el grupo de niños con estudio microbiológico negativo (media 0,98 ng/mL y 3,74 ng/mL respectivamente) ya que se esperaba unos resultados similares, al igual que ocurre en el valor absoluto de neutrófilos y en la PCR, pero cabría pensar que dado que la infección de los niños incluidos en el grupo negativo se manifiesta en los niños de menos edad, y

es en los niños con este rango de edad donde son frecuentes las infecciones otorrinolaringológicas recurrentes. Además en el paciente pediátrico más pequeño es frecuente una coinfección vírica-bacteriana tardía, ambas razones que podrían justificar ese ligero aumento de PCT.

Cuando se realizó la curva ROC de los marcadores de infección a los 57 niños a los que se les había realizado el estudio microbiológico, también se obtuvieron AUC similares para la PCR y PCT (0,826 y 0,811, respectivamente) pero no así para el valor absoluto de neutrófilos que presentaba una AUC inferior (0,699). De manera que si se utilizaba como punto de corte 9.100 neutrófilos/uL se obtenía una sensibilidad del 83,9 % pero solamente un 53,8 % de especificidad, mientras que con una concentración de PCR de 119,50 mg/L se alcanzaba una sensibilidad de 83,8 % y una especificidad de 80,8 %, y para obtener esa misma sensibilidad (83,8 %) se debía de utilizar una concentración de PCT de 1,68 ng/mL, con una especificidad del 73,1 %.

A la vista de estos resultados el mejor marcador de neumonía neumocócica sería la PCR, sin embargo, e igual que ocurría previamente, si se fija el punto de corte de 119,50 mg/L existe un solapamiento entre las concentraciones de PCR entre los distintos tipos de neumonías, en los que las medias y ds eran de  $221,37 \pm 110,59$  mg/L en el grupo de niños con hemocultivo positivo para *S.pneumoniae*, de  $88,65 \pm 88,68$  mg/L en el grupo de niños con serología específica positiva para bacterias atípicas y de  $86,17 \pm 94,43$  mg/L para el grupo de niños denominado negativo, mientras que con la PCT no existe tal solapamiento ( $12,12 \pm 15,56$ ,  $0,98 \pm 2,00$  ng/mL y  $3,74 \pm 5,80$  ng/mL, respectivamente).

Al estudiar la imagen de la placa de tórax en función del estudio microbiológico, la presencia de condensación tenía un OR de 11,7 frente a la imagen de infiltrado para el diagnóstico de infección por *S.pneumoniae* con una sensibilidad del 83,9 % y una especificidad de 69,2 %. Sin embargo, se observaba esa misma imagen de condensación en el 37,5 % de las neumonías con serología positiva para bacterias atípicas y en el 33,3 % del grupo denominado negativo. La imagen de condensación presente en un 33,3 % de los niños del grupo negativo fue un resultado inesperado, ya que a pesar de no haber realizado la serología específica para virus, era un grupo con neumonía de causa probablemente vírica, dado que tanto el hemocultivo para *S.pneumoniae* como la

serología específica para bacterias atípicas habían sido negativos. Además la media de la edad (2,89 años) de los niños de este grupo es característica de este tipo de infección, sin embargo la literatura apunta solamente entre un 3-5 % la imagen de condensación en la placa de tórax en las neumonías víricas<sup>241</sup>.

Los cuatro niños del grupo denominado negativo con imagen de condensación en la placa de tórax tenían una edad comprendida entre los 9 meses y los 3 años. También fue negativo el Ag del neumococo en orina en los cuatro casos, y las concentraciones de PCR fueron de 60 mg/L, 96 mg/L, 276 mg/L y 93 mg/L, mientras que las concentraciones de PCT fueron 0,15 ng/mL, 4,17 ng/mL, 15,93 ng/mL y 1,70 mg/mL, respectivamente. La negatividad de las pruebas microbiológicas se podría explicar por la baja rentabilidad diagnóstica del hemocultivo estimada en alrededor del 25 %, rentabilidad diagnóstica que disminuye y puede presentar gran discrepancia cuando se trata de población pediátrica, unos estudios muestran la rentabilidad diagnóstica en el 20 % mientras que otros la cifran en un 5,5 %. Hay que añadir el porcentaje de contaminaciones y de resultados falsos debido a la dificultad de la toma de muestra y en ocasiones, al escaso volumen de la misma en el paciente pediátrico<sup>305, 306</sup>. Además, a pesar de que todas las Sociedades Científicas recomiendan realizar el hemocultivo en todos los pacientes con neumonía que ingresan en el hospital es un hecho cierto el bajo índice de bacteriemias que se obtienen en las neumonías no severas<sup>307</sup>. Es importante destacar que en tres de los cuatro casos conflictivos la concentración de PCT estaba elevada, mientras que solo en uno la concentración de PCR se encontraba en un nivel superior a la media obtenida en los pacientes con neumonía por *S.pneumoniae* de nuestro estudio (221,38 mg/L).

A la vista de los resultados anteriores, y utilizando como prueba diagnóstica la imagen de condensación de la placa de tórax, en nuestro estudio, se diagnosticaría erróneamente alrededor de un 35 % de neumonía por *S.pneumoniae* y por tanto, se administraría tratamiento antibiótico específico de neumococo en ese mismo porcentaje, en un 37,5 % en las neumonías causadas por bacterias atípicas y en un 33,3 % en las neumonías del grupo negativo. Es decir, se administraría terapia antibiótica innecesaria al 15,8 % del total de los niños incluidos en el estudio.

Con la finalidad de mejorar el diagnóstico de infección de vías respiratorias inferiores, y disminuir el tratamiento antibiótico innecesario, se realizó un estudio de regresión logística multivariante entre la imagen de la placa de tórax más la PCR y la imagen de la placa de tórax más la PCT, la PCR más la PCT y los tres parámetros juntos y se observó que las AUC eran similares, 0,844, 0,847, 0,841 y 0,854, respectivamente. Estos resultados indicaban que los tres parámetros aumentaban de manera similar, y que la suma de todos ellos no aportaba ninguna información adicional en el diagnóstico de infección de vías respiratorias inferiores.

Sin embargo, el OR de la imagen de la placa de tórax era de 11,7, el OR de la imagen de la placa de tórax más la PCT era de 8,2 frente a un OR de 4,5 de la imagen de la placa de tórax más la PCR. Este valor casi del doble del OR de la imagen de la placa de tórax más la PCT respecto del OR de la imagen de la placa de tórax más la PCR, indica que la concentración de PCT puede aportar información adicional a la imagen de la placa de tórax en un mayor número de casos que la concentración de la PCR. Esta diferencia en el OR, que no se observaba en las AUC, entre la combinación de la imagen de la placa de tórax más PCR y la imagen de la placa de tórax más PCT puede ser debido a múltiples factores como que la concentración de PCR no solo aumenta en la infección si no también en la inflamación, que algunos virus son responsables de niveles de PCR elevados y que es habitual, especialmente en la población pediátrica, una infección bacteriana de vías respiratorias inferiores asociada a una infección vírica tardía o viceversa (coinfección). De hecho esos resultados confirmarían los tres casos de los niños pertenecientes al grupo negativo en los que la concentración de PCT está elevada, mientras que la concentración de la PCR se encuentra cercana a la media obtenida en el grupo de pacientes con serología positiva para bacterias atípicas (88,65 mg/L) y en el grupo denominado negativo (86,17 mg/L).

Otra de las pruebas que valoramos fue la determinación del Ag del neumococo en orina. Si bien es cierto que es una prueba sencilla, rápida, disponible 24 horas y no traumática, hecho de especial importancia cuando se trata de población pediátrica, sin embargo tanto la sensibilidad obtenida en este estudio (70,4 %), y fundamentalmente la especificidad (50,0 %) de esta prueba son inferiores a las de las proteínas de fase aguda, PCR y PCT. Consideramos de especial importancia la baja especificidad de la determinación del Ag del neumococo en orina, quizá debido a que en la población

pediátrica es habitual las infecciones recurrentes por *S.pneumoniae*, como son la otitis, sinusitis, laringitis o faringitis que pueden generar la presencia de Ag en la orina del paciente en ausencia de neumonía, y por tanto disminuir la especificidad de esta prueba. Respecto a los pacientes con infección por *S.pneumoniae* confirmado por el hemocultivo en los que se obtuvieron resultados negativos en esta prueba (falsos negativos) puede ser debido a que la muestra de orina estuviera diluida, a que el tiempo transcurrido desde el inicio de la infección hasta la toma de muestra fuera insuficiente para la síntesis y aparición en la orina del Ag específico o también debido a que dicha técnica es una determinación semicuantitativa manual.

En resumen, de manera similar a lo descrito en la literatura científica, en nuestro trabajo uno de los mejores marcadores de neumonía causada por *S.pneumoniae* sería la imagen de condensación en la placa de tórax. Sin embargo, es importante destacar, al igual que lo hacen otros autores, la existencia de diferencias interobservador en la interpretación de la misma, que se requiere personal cualificado para ello y que existe, según nuestro estudio, alrededor de un 35 % de imagen de condensación en la placa de tórax en neumonías no neumocócicas. Las pruebas microbiológicas no permiten ofrecer una respuesta rápida y la rentabilidad diagnóstica de las mismas puede ser insuficiente, más aún en la población pediátrica. Como consecuencia de lo expuesto previamente se produce un retraso en el diagnóstico del niño que acude al Servicio de Urgencias con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores que podría desencadenar un peor pronóstico y/o un tratamiento inadecuado. De esta manera, el uso de una proteína de fase aguda, como la PCR o la PCT, apoyaría el diagnóstico de una manera objetiva, reproducible, automatizada y disponible 24 horas. Respecto al punto de corte idóneo de la PCR y de la PCT habría que valorar en cada caso la clínica y la historia del paciente, ya que si se opta por una mayor especificidad aumentarían los falsos negativos y por tanto no se estarían diagnosticando correctamente las neumonías por *S.pneumoniae*, o por el contrario, si se antepone la sensibilidad desencadenaría un sobretratamiento antibiótico innecesario. No obstante, como se ha mencionado previamente, la ventaja que podría aportar la determinación de la PCT frente a la de la PCR es que en la primera no tiene lugar un solapamiento de la concentración entre los distintos tipos de neumonías estudiadas, mientras que existen neumonías negativas (“probablemente víricas”) y de bacterias atípicas con valores de PCR muy elevados, que se podrían confundir con los de una neumonía por *S.pneumoniae*. Además, como ha quedado



patente en este estudio, existen casos en los que la concentración de PCT enfocaría hacia el diagnóstico correcto de una manera más discriminante que cuando se valora la concentración de PCR, debido a un comportamiento diferente de la PCT respecto de la PCR y de la imagen de la placa de tórax.

### 5.3 Pacientes neonatos con sospecha de infección bacteriana, sepsis

La literatura científica estima que la sepsis neonatal tiene lugar en el 10 % de los neonatos y en más del 25 % de los neonatos de muy bajo peso (< 1.500 gramos). A pesar de que se ha observado en los últimos años en nuestro país una disminución del porcentaje de las infecciones de transmisión vertical, debido a las medidas de prevención establecidas, la incidencia de sepsis se estima alrededor del 5 %, alcanzando hasta un 15,6 % en los recién nacidos de muy bajo peso, tanto de transmisión vertical como nosocomial. La tasa de mortalidad de estos pacientes se sitúa entre un 10-15 % en las infecciones nosocomiales aumentando hasta un 30 % en la infecciones de transmisión vertical<sup>308, 309</sup>.

Dado que en esta parte del estudio era la nuestra una población de recién nacidos, se quiso conocer si existían factores perinatales que pudieran condicionar los niveles de los marcadores de infección. Por eso se estudiaron algunas de las variables más frecuentes y las que consideramos podían tener importancia en este estudio. Así, en los 130 neonatos denominados “no infectados” se estudiaron variables relacionadas con la madre, tales como la existencia o no de una patología materna (diabetes e hipertensión), si la mujer era o no portadora de *S.agalactie*, el tiempo de bolsa rota (más de 12 horas en los neonatos prematuros y más de 18 horas en los neonatos a término), el tipo de parto (cesárea o vaginal), la existencia de fiebre materna intraparto, y otros propios del neonato como la prematuridad, el CIR, la existencia de corioamnionitis, el pH de arteria umbilical  $\leq 7,2$ , el tipo de reanimación, el test de Apgar a los 5 minutos < 7, presencia de ictericia y de patología respiratoria. A diferencia de otros autores no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de los marcadores de infección de los neonatos de madres con enfermedades como diabetes o hipertensión, ni de las madres portadoras de *S.agalactie*, tampoco en los neonatos con corioamnionitis<sup>282, 283, 284</sup>. Sin embargo, si hemos encontrado diferencias

estadísticamente significativas en función de la prematuridad o no del recién nacido que afectan a la PCR ( $p < 0,001$ ), a los leucocitos ( $p = 0,036$ ), a los neutrófilos totales ( $p = 0,004$ ), y al porcentaje de neutrófilos ( $p = 0,012$ ), pero que no afecta a la PCT ( $p = 0,581$ ) ni al índice de inmadurez ( $p = 0,526$ ). Este hallazgo previamente no descrito en la literatura podría conferir a la PCT el papel de facilitar el manejo del recién nacido por el pediatra.

Tras estudiar las variables perinatales que podrían influir en los marcadores de infección estudiados y los valores de normalidad de la PCR y de la PCT en el recién nacido se valoró la capacidad diagnóstica de los mismos en función de la prematuridad o no del neonato. Se observó que para neonatos prematuros a pesar que el AUC mayor corresponde al índice de inmadurez con un valor de 0,919, al establecer el mejor punto de corte de este parámetro se obtenía una especificidad inferior a la de la PCR o la PCT, que muestran un AUC de 0,855 y 0,796, respectivamente. Dicho de otro modo, con un punto de corte de 0,04 para el índice de inmadurez, 0,56 mg/L para la PCR y 0,52 ng/mL para la PCT, se obtenía una sensibilidad del 87,5 % en todos ellos, mientras que las especificidades eran de 70,4 %, 62,0 % y 74,6 %, respectivamente. Estos resultados reflejan una variación en la administración de tratamiento antibiótico inadecuado desde un 25,4 % para la PCT hasta un 38,0 % para la PCR, de manera que al utilizar una concentración de PCT de 0,52 ng/mL como punto de corte para diagnosticar una infección en el recién nacido prematuro estaríamos disminuyendo en un 12,6 % la administración inadecuada de dicho tratamiento.

Las AUC de los marcadores de infección en los neonatos nacidos a término varían considerablemente respecto de los marcadores de infección de los neonatos prematuros. En este grupo de neonatos se observa que la mayor sensibilidad corresponde a la PCT (90,3 %), seguido del índice de inmadurez (83,9 %) y de la PCR (80,9 %). Es importante destacar que en este grupo de población a pesar de que las sensibilidades son mayores o similares a las presentadas en los recién nacidos prematuros, las especificidades están muy alejadas de las anteriores. Este aumento de la sensibilidad puede deberse a que en el neonato a término los cambios debidos al crecimiento han tenido lugar antes del nacimiento mientras que en el prematuro tienen lugar fuera del útero materno, es decir podría deberse a una mayor estabilidad

fisiológica del neonato a término respecto del recién nacido prematuro, o lo que es lo mismo una mayor madurez del neonato a término.

Como consecuencia de la variación fisiológica de las concentraciones de PCR y PCT en las primeras horas de vida del recién nacido y con la finalidad de conocer mejor el valor de los marcadores de infección en la población neonatal, se calculó la capacidad diagnóstica de los mismos en función de las variables prematuridad y horas de vida del neonato, estableciendo un punto de corte para la edad de 72 horas, evitando así la sobrevaloración de la concentración de las proteínas de fase aguda en las primeras horas de vida. Cuando analizamos los resultados de la capacidad diagnóstica de los marcadores de infección se observó que, dependiendo de la prematuridad o no del recién nacido y de las horas de vida del mismo (mayor o menor de 72 horas), dicha capacidad diagnóstica variaba considerablemente.

Se observó que los mejores resultados de sensibilidad de los marcadores de infección, alrededor del 90,0 %, se obtenían en los recién nacidos prematuros, pese a que los resultados de especificidad de los mismos en el neonato de menos de 72 horas de vida eran muy bajas. En este grupo de pacientes prematuros, debido posiblemente a la inmadurez de sus sistemas de defensa, a que en muchas ocasiones tienen un peso muy bajo y a que se encuentran ingresados en una UCIN son más susceptibles de padecer una infección bacteriana grave, de manera que el diagnóstico rápido de una sepsis neonatal, tanto precoz como tardía es fundamental para un buen desarrollo y pronóstico del recién nacido. Por estas razones en los neonatos prematuros, es deseable un marcador de infección sensible, intentando que tenga la mayor especificidad, y evitando así en la medida de lo posible un tratamiento antibiótico innecesario, debido a los efectos adversos de los mismos. De hecho, se ha observado que en las UCIN que se han prescrito de rutina cefalosporinas de tercera generación en pacientes con sospecha de sepsis tenía lugar un aumento de las colonizaciones e infecciones por bacilos Gram-negativo cefalosporinas resistentes<sup>310</sup>. En este trabajo, en los recién nacidos prematuros de menos de 72 horas de vida destacaba la baja especificidad de la PCR que no alcanza el 50,0 %, frente a la del índice de inmadurez del 63,0 % y de la PCT del 59,3 %, para una misma sensibilidad (90,0 %) en los tres parámetros. Como consecuencia de la especificidad de la PCR se administraría un tratamiento antibiótico innecesario al 51,9 % de los neonatos, mientras que si se utiliza un valor de 0,04 de índice de inmadurez y

una concentración de PCT de 0,60 ng/mL se reduciría dicho tratamiento innecesario hasta un 37,0 % y un 40,7 %, respectivamente. Otro dato importante a destacar en los recién nacidos prematuros es la buena capacidad diagnóstica del índice de inmadurez en los neonatos de más de 72 horas de vida que con un valor de 0,07 se obtenía una sensibilidad del 90,9 % y una especificidad del 93,2 %, de manera que el índice de inmadurez tendría la mejor capacidad diagnóstica para detectar una sepsis neonatal tardía en la población de recién nacidos prematuros de más de 72 horas de vida.

Respecto a los recién nacidos a término de menos de 72 horas de vida ocurre algo similar que en los recién nacidos prematuros de esa misma edad, es decir con sensibilidades similares las especificidades en este periodo no alcanzan el 50,0 %. Se observó que con un valor de índice de inmadurez de 0,03 se obtenía una sensibilidad del 87,0 % con una especificidad del 45,5 %. Para una concentración de PCR de 1,08 mg/L se conseguía una sensibilidad del 69,6 % y una especificidad del 36,4 %. Sin embargo, para una concentración de PCT de 1,14 ng/mL se obtenía una sensibilidad del 87,0 % y una especificidad del 63 %, muy superiores a la de los parámetros previos. Al valorar la capacidad diagnóstica de los parámetros anteriores en los recién nacidos a término de más de 72 horas de vida requiere especial atención el comportamiento de la PCT que presenta una sensibilidad del 100 % con una especificidad del 60 %. De esta manera la PCT parece ser el mejor marcador de sepsis neonatal tanto precoz como tardía en el recién nacido a término.

Es importante destacar el AUC de la PCR que oscila desde 0,565 en neonatos a término de menos de 72 horas hasta 0,880 en prematuros de más de 72 horas, sin embargo, en ningún periodo estudiado supera en sensibilidad y especificidad al índice de inmadurez o a la PCT. Cabría pensar que la peor utilidad de la PCR en los recién nacidos prematuros es debido a, como se ha mencionado previamente, la inmadurez de la síntesis proteica hepática del prematuro o a que los aminoácidos se desvíen al crecimiento del recién nacido, y en los nacidos a término podría deberse al mayor tiempo de semivida de dicha proteína que permanece más tiempo en el organismo tras su aumento en respuesta al estrés del parto.

Respecto a la capacidad diagnóstica de infección de los leucocitos, del valor absoluto de neutrófilos y del porcentaje de neutrófilos en función de las distintas

variables estudiadas (prematuridad y horas de vida del recién nacido), si bien es cierto que en algunos estadios presentan AUC considerables, al evaluar los puntos de corte tienen buena sensibilidad pero, en nuestro estudio, siempre presentan especificidades inferiores a la PCR, PCT o al índice de inmadurez.

Dado que la mejor capacidad diagnóstica de los marcadores de infección estudiados correspondía al índice de inmadurez, a la PCR y a la PCT se realizó un estudio de regresión logística multivariante entre los mismos sin tener en cuenta la prematuridad ni las horas de vida del recién nacido en un intento de facilitar el manejo del paciente por parte del clínico en lo que se refiere a los datos de laboratorio. Las AUC obtenidas fueron muy similares de 0,880, 0,862 y 0,832 para el índice de inmadurez más la PCR, el índice de inmadurez más la PCT y la PCR más la PCT, respectivamente. Todas las combinaciones presentaban una sensibilidad de 90,6 % y unas especificidades de 59,3 %, 61,9 % y 57,6 %, respectivamente. Esta similitud en el estudio de las combinaciones de los distintos marcadores de infección podría deberse a que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni el índice de inmadurez ni la concentración de PCT en función de la prematuridad del recién nacido, ambos parámetros incluidos en todas las combinaciones estudiadas.

A la vista de los resultados obtenidos en este trabajo, y viendo que los marcadores de infección, índice de inmadurez, PCR y PCT, presentan AUC similares y que en ningún caso son patognomónicos se deberá valorar lo que se precise en cada caso clínico, es decir si se opta por una mejor sensibilidad de manera que se diagnostique la sepsis neonatal tanto precoz como tardía, o por el contrario, una mayor especificidad y como consecuencia, se administre tratamiento antibiótico innecesario a la menor población neonatal posible.

Uno de los objetivos secundarios planteados en este trabajo fue estudiar la capacidad discriminante de la PCT en función del agente responsable de la infección (bacterias, virus y hongos), debido a que la bibliografía apunta hacia un aumento selectivo de esta proteína en una infección bacteriana y no en los otros dos tipos de infecciones. Se observó que la media de la concentración de la PCT en las infecciones víricas es de 0,15 ng/mL frente a la concentración de PCT en las infecciones bacterianas que alcanza 7,21 ng/mL y en las fúngicas que es de 8,90 ng/mL. A pesar de que no se

pueden sacar conclusiones precisas debido al escaso número de pacientes en alguno de los grupos (virus y hongos, 3 y 5 respectivamente), es destacable que en ninguno de los pacientes de nuestro trabajo con infección vírica la concentración de PCT estaba aumentada y si en los pacientes con infección bacteriana, en concordancia con lo descrito en la literatura<sup>113</sup>. En nuestro grupo de pacientes con infección fúngica la concentración de la PCT estaba aumentada, debido quizá a una posible coinfección bacteriana, ya que es frecuente una infección bacteriana secundaria a una infección por *Candida albicans*.

Otro de los objetivos secundarios era comprobar la utilidad de los marcadores de infección para discriminar entre bacteriemia y sepsis. Por ello, de los neonatos diagnosticados por cultivo microbiológico y evolución clínica como afectados de infección bacteriana, se clasificaron 27 de ellos como sepsis y 19 como bacteriemias, y se estudió la capacidad diagnóstica de los marcadores de infección en ambas patologías. Se observó que existían diferencias significativas en los niveles de todos marcadores y que todos presentaban unas AUC similares, alrededor de 0,7. No obstante, al diferenciar la prematuridad o no del recién nacido, todos los marcadores tenían mayor AUC en los prematuros, y la que presentaba mayor capacidad diagnóstica en esos pacientes era la PCT que alcanzaba un AUC de 0,787, mientras que en los nacidos a término el AUC de todos rondaba un valor de 0,6.

Para concluir, y haciendo un breve repaso a las pruebas diagnósticas de infección presentes en el laboratorio observamos que la determinación de leucocitos CD-64 positivos son de complicada determinación y de difícil acceso, los paneles microbiológicos aún no disponibles, las IL no son factibles de cuantificar las 24 horas del día debido al método de determinación requerido, aunque recientemente se ha incorporado la IL-6 a un analizador de fácil manejo, los resultados de los hemocultivos pueden demorarse varios días, y en ocasiones con resultados falsos, con más frecuencia en la población pediátrica. Respecto a los marcadores valorados en este trabajo los leucocitos presentan especificidades inferiores al resto de marcadores, como el índice de inmadurez, PCR o PCT. Hay que añadir que, si bien es cierto que el índice de inmadurez es un buen marcador de infección bacteriana, de fácil realización y poco coste, no es menos cierto que requiere personal cualificado, entrenado y, al igual que en la interpretación de la imagen de la placa de tórax, pueden existir diferencias

interobservador. De manera que tanto la PCR como la PCT constituyen dos pruebas de ayuda al diagnóstico objetivas, de fácil determinación y con posibilidad de medida en un laboratorio de urgencias las 24 horas del día.

Es necesario un marcador sensible, específico y disponible las 24 horas del día con un coste-beneficio adecuado. Sin embargo, como queda patente en este trabajo, aún no se ha encontrado una molécula patognomónica para una infección bacteriana, debido a que en el organismo, y en mayor medida en el recién nacido tanto prematuro como a término, tienen lugar multitud de reacciones cruzadas entre inflamación e infección, y a que la respuesta de un paciente ante un estímulo externo depende tanto del huésped (tipo de virus, bacterias...) como del hospedador (sistema inmunitario, polimorfismos genéticos...). Hay que añadir que el paciente neonato es un paciente complicado que puede presentar múltiples factores tanto maternos como perinatales que dificulten la interpretación de los resultados.

## **6. CONCLUSIONES**



## 6 Conclusiones

1. En nuestra población pediátrica sana la concentración sérica de PCT se encuentra dentro del rango de normalidad descrito por otros autores, por tanto una concentración superior a 0,5 ng/mL sugiere la presencia de patología infecciosa.
2. En los primeros días de vida el retorno precoz de los niveles de PCT a la normalidad con respecto a los de la PCR, podría otorgar a la PCT un papel relevante en el diagnóstico temprano de la infección neonatal.
3. En los neonatos prematuros tiene lugar un aumento fisiológico de las concentraciones de PCR y PCT a las 24-48 horas de vida, y esto no se observa en el neonato nacido a término. Este comportamiento habrá de ser tenido en cuenta en la práctica clínica diaria para la correcta interpretación de los resultados.
4. La prematuridad es el único factor perinatal que influye en los resultados de PCR y población leucocitaria. Sin embargo, esta variable no afecta a los niveles de PCT ni al índice de inmadurez, por lo que ambos parámetros podrían facilitar el manejo del recién nacido en la práctica clínica.
5. En la población neonatal la capacidad diagnóstica de los marcadores de infección para establecer el diagnóstico de enfermedad infecciosa bacteriana difiere en función de la prematuridad o no del recién nacido y de las horas de vida del mismo, por lo que el pediatra debería valorar estas variables en cada paciente.
6. Para establecer el diagnóstico de neumonía por *S.pneumoniae*, la combinación de la imagen de la placa de tórax más la PCT en niños con sospecha de infección de vías respiratorias inferiores presenta un OR doble que la combinación de la imagen de la placa de tórax más la PCR. Por tanto la determinación de PCT podría mejorar la capacidad diagnóstica en esta entidad clínica, disminuyendo además el tratamiento antibiótico innecesario.
7. La concentración sérica de PCT es doce veces superior en los niños que padecen una neumonía por *S.pneumoniae* que la de los niños cuya neumonía está causada por

bacterias atípicas, por lo que podría tener capacidad diagnóstica discriminante entre ambas etiologías.

8. La concentración sérica de PCR presenta un solapamiento entre los niños con neumonía causada por bacterias atípicas y los niños con hemocultivo y serología negativa. Este solapamiento no se ha observado en la concentración sérica de PCT por lo que su inclusión en el panel de pruebas del laboratorio clínico podría mejorar el diagnóstico de esta enfermedad.
9. La determinación del Ag del neumococo en orina permite realizar el diagnóstico de certeza de neumonía causada por *S.pneumoniae* con una sensibilidad del 70,4 % pero con una especificidad del 50 %, por lo que su uso no sería aconsejable en el diagnóstico de esta enfermedad.
10. Cuando se estudia la capacidad diagnóstica de los marcadores de infección en neonatos diferenciando únicamente la prematuridad o no del recién nacido, la PCT es el marcador que presenta mayor sensibilidad y especificidad tanto en los neonatos prematuros como en los nacidos a término, por lo que podría ser útil para establecer el diagnóstico de infección bacteriana. Sin embargo, cuando se valora la prematuridad y las horas de vida del recién nacido, el índice de inmadurez se presenta como el mejor marcador de infección en neonatos prematuros y en los neonatos nacidos a término es la PCT la que presenta mayor sensibilidad y especificidad.
11. Debido al escaso número de casos no hemos podido realizar un estudio comparativo entre las infecciones bacterianas, víricas y fúngicas en el paciente neonato. Si bien es cierto, que en nuestros tres casos de infección vírica los valores de PCT están dentro de los niveles de normalidad, por lo que podría contribuir a disminuir el tratamiento antibiótico innecesario en estos pacientes.
12. La PCT es el marcador que presenta mayor capacidad diagnóstica discriminante en los neonatos que padecen bacteriemia *versus* sepsis, de manera que podría utilizarse como parámetro diagnóstico en estas patologías.
13. En este estudio parece evidente que ninguno de los marcadores de infección estudiados posee suficiente sensibilidad y especificidad para ser considerado como

el *gold estándar* en el diagnóstico de patología infecciosa. Por ello serán necesarios estudios posteriores dirigidos a la búsqueda de un marcador o marcadores que permitan al clínico el diagnóstico precoz y de certeza de esta entidad.

## **7. BIBLIOGRAFIA**

## 7 Bibliografía

---

- <sup>1</sup> Martínez JA, Mensa Pueyo J. Problemas especiales en enfermedades infecciosas. En: Farreras-Rozman (eds) Medicina Interna, 15ª ed. Elsevier. 2005: 2543-2545.
- <sup>2</sup> Madoff L, Kasper D. Consideraciones básicas. Introducción a las enfermedades infecciosas: Interacciones entre el hospedador y el parásito. En: Harrison (eds) Principios de Medicina Interna, 16ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2006: 905-919.
- <sup>3</sup> Torrabadella de Reinoso P, Jiménez Pérez M. Sepsis y shock séptico. En: Farreras-Rozman (eds) Medicina Interna, 15ª ed. Elsevier. 2005: 2545-2552.
- <sup>4</sup> Munford R. Sepsis y shock séptico. En: Harrison (eds) Principios de Medicina Interna, 16ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2006: 946-952.
- <sup>5</sup> Cardona Iglesias P.J, Pujol-Borrell R, Auxina Ruiz V. Patogenia de las enfermedades infecciosas. En: Farreras-Rozman (eds) Medicina Interna, 15ª ed. Elsevier. 2005: 2189-2195.
- <sup>6</sup> Abraham E, Matthay M, Dinarello CA, Vincent JL, Cohen J, Opal SM, Glauser M, Parsons P, Fisher CJ, Repine JE. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: Time for a reevaluation. Crit Care Med 2000; 28 (1): 232-235.
- <sup>7</sup> Carvalho P, Trotta E. Advances in sepsis diagnosis and treatment. J Pediatr (Rio J) 2003; 79 (2S): 195-204.
- <sup>8</sup> Goldstein B, Giroir B, Randolph A, Members of the International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. Pediatr Crit Care Med 2005; 6 (1): 2-8.
- <sup>9</sup> Letourte S, Martinot A, Duhamel A. Validation of the pediatric logistic organ dysfunction (PELOD) score: Prospective, observational, multicentre study. Lancet 2003; 362: 192-197.
- <sup>10</sup> Riedemann N, Guo R-F, Ward P. The enigma of sepsis. J. Clin. Invest 2003; 112: 460-465.
- <sup>11</sup> Vaqué Rafart R. Epidemiología de las enfermedades infecciosas. En: Farreras-Rozman (eds) Medicina Interna, 15ª ed. Elsevier. 2005: 2196-2200.
- <sup>12</sup> Martin G, Mannino D, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med 2003; 346 (16): 1546-1555.
- <sup>13</sup> Watson RS, Carcillo JA, Linde-Zwirble WT, Clermont G, Lidicker J, Angus DC. The epidemiology of severe sepsis in children in the United States. Am J Resp Crit Care Med 2003; 167: 695-701

- 
- <sup>14</sup> Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Lemons JA, Donovan, EF, Stark AR, Tyson JE, Oh W, Bauer CR, Korones SB, Shankaran S, Laptook AR, Stevenson DK, Papile L, Poole WK. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of NICHD neonatal research network. *Pediatrics* 2002; 110 (2): 285-291.
- <sup>15</sup> Randolph AG. The purpose of the 1<sup>st</sup> international sepsis forum on sepsis in infants and children. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6 (3S): 1-2.
- <sup>16</sup> Watson RS, Carcillo JA. Scope and epidemiology of pediatric sepsis. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6 (3S): 3-5.
- <sup>17</sup> Brilli RJ, Goldstein B. Pediatric sepsis definitions: Past, present, and future. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6 (3S): 6-8.
- <sup>18</sup> Vaqué Rafart J, Rosselló Urgell J. Evaluación de la prevalencia de las infecciones nosocomiales en los hospitales españoles. EPINE 1990-1999. Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene 2001. 1-449.
- <sup>19</sup> Vaqué Rafart J, Rosselló Urgell J. Evaluación de la prevalencia de las infecciones extrahospitalarias. EPINE 2002. Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene 2003. 1-450.
- <sup>20</sup> Jiménez de Anta Losada MT, Vila Estapé J. Diagnóstico de las enfermedades infecciosas. En: Farreras-Rozman (eds) *Medicina Interna*, 15<sup>a</sup> ed. Elsevier. 2005: 2200-2202.
- <sup>21</sup> Thomas L. Germs. *N Engl J Med* 1972; 287: 553-555.
- <sup>22</sup> Munford RS, Pugin J. Normal responses to injury prevent systemic inflammation and can be immunosuppressive. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 316-321.
- <sup>23</sup> Portnoy DA. Manipulation of innate immunity by bacterial pathogens. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 25-28.
- <sup>24</sup> Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348 (2): 138-150.
- <sup>25</sup> Dahmer MK, Randolph A, Vitali Rally, Quasney MW. Genetic polymorphisms in sepsis. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6 (3S): 61-73.
- <sup>26</sup> Hodes RJ. Aging and the immune system. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 455-456.
- <sup>27</sup> Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Propiedades generales de la respuesta inmunitaria. En: Abbas-Lichtman (eds) *Inmunología celular y molecular*, 2<sup>a</sup> ed. Interamericana Mc Graw Hill 1995: 4-14.

- 
- <sup>28</sup> Amlie-Lefond C, Paz DA, Connelly MP, Huffnagle GB, Duna KS, Whelan NT, Whelan HT. Innate immunity for biodefense: a Strategy whose time has come. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116 (6): 1334-1342.
- <sup>29</sup> Tosi MF. Innate immune responses to infection. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116 (2): 241-249.
- <sup>30</sup> Chinen J, Shearer WT. Basic and clinical immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116 (2): 411-418.
- <sup>31</sup> Staros EB. Innate immunity: New approaches to understanding its clinical significance. *Am J Clin Pathol* 2005; 123 (2): 305-312.
- <sup>32</sup> Valledor AF. The innate immune response under the control of the LXR pathway. *Immunobiology* 2005; 210: 127-132.
- <sup>33</sup> Dinarello C, Gelfand J. Alteraciones de la temperatura corporal. En: Harrison (eds) *Principios de Medicina Interna*, 16ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2006: 110-113.
- <sup>34</sup> Tudela Hita P, Urrutia de Diego A. Fiebre aguda y fiebre de origen desconocido. Farreras-Rozman. *Medicina Interna*. 15ª edición. Ed. Elsevier. Cap. 320: 2539-2545.
- <sup>35</sup> Gelfand J. Fiebre de origen desconocido En: Harrison (eds) *Principios de Medicina Interna*, 16ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2006: 953-958.
- <sup>36</sup> Fernández López A, Luaces Cubells C, Valls Tolosa C, Ortega Rodriguez J, García García JJ, Mira Vallet A, Pou Fernández J. Procalcitonina para el diagnóstico precoz de infección bacteriana invasiva en el lactante febril. *An Esp Pediatr* 2001; 55 (4): 321-328.
- <sup>37</sup> Ricket RC. Regulation of B lymphocyte activation by complement C3 and the B cell coreceptor complex. *Curr Opin Immunology* 2005; 17: 237-243.
- <sup>38</sup> Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. El sistema del complemento. En: Abbas-Lichtman (eds) *Inmunología celular y molecular*, 2ª ed. Interamericana Mc Graw Hill: 329-354.
- <sup>39</sup> Dinarello CA. Proinflammatory Cytokines. *Chest* 2000; 118: 503-508.
- <sup>40</sup> Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Citocinas. En: Abbas-Lichtman (eds) *Inmunología celular y molecular*, 2ª ed. Interamericana Mc Graw Hill 1995: 268-292.
- <sup>41</sup> Deventer SJH. Cytokine and cytokine receptor polymorphisms in infectious disease. *Int Care Med* 2000; 26: 98-102.
- <sup>42</sup> Dinarello CA. Interleukin-1 $\beta$ . *Crit Care Med* 2005; 33 (12S): 460-462.

- 
- <sup>43</sup> Dinarello CA. Blocking IL-1 in systemic inflammation. *JEM* 2005; 201 (9): 1355-1359.
- <sup>44</sup> Dinarello CA. The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *New Engl J Med* 2000; 343 (10): 732-734.
- <sup>45</sup> Ulloa L, Tracey KJ. The 'cytokine profile': a code for sepsis. *TRENDS Molec Med* 2005; 11 (2): 56-63.
- <sup>46</sup> Gebhard F, Pfetsch H, Steinbach G, Strecker W, Kinzi L, Brückner UB. Is interleukin 6 an early marker of injury severity following major trauma in humans. *Arch Surg* 2000; 135: 291-295.
- <sup>47</sup> Kleijn ED, Hazelzet JA, Kornelisse RF, Groot R. Pathophysiology of meningococcal sepsis in children. *Eur J Pediatr* 1998; 157: 869-880.
- <sup>48</sup> Santana C, Guindeo MC, González G, García-Muñoz F, Saavedra P Doménech E. Cord blood levels of cytokines as predictors of early neonatal sepsis. *Acta Paediatr* 2001; 90:1176-1171.
- <sup>49</sup> Song M, Kellum JA. Interleukin-6. *Crit Care Med* 2005; 33 (12S): 463-465.
- <sup>50</sup> Tsiotou AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, Bramis J. Septic shock; current pathogenetic concepts from clinical perspectiva. *Med Sci Monit* 2005; 11 (3): RA76-85.
- <sup>51</sup> Scumpia PO, Moldawer LL. Biology of interleukin-10 and its regulatory in sepsis syndromes. *Crit Care Med* 2005; 33 (12S): 468-471.
- <sup>52</sup> Bozza FA, Bozza PT, Castro Faria Neto HC. Beyond sepsis pathophysiology with cytokines: what is their value as biomarkers for disease severity?. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100 (11S): 217-221.
- <sup>53</sup> Gouwy M, Struyf S, Proost P, Van Damme J. Synergy in cytokine and chemokine networks amplifies the inflammatory response. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16 (6): 561-580.
- <sup>54</sup> Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokines receptors in inflammation. *N Engl J Med* 2006; 354: 610-621.
- <sup>55</sup> Murdoch C, Finn A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood* 2000; 95 (10): 3032-3043.
- <sup>56</sup> Wells T, Power C, Shaw J, Proudfoot A. Chemokine blockers-therapeutics in the making?. *Trends Pharmacol Sci* 2006; 27 (1):41-47.
- <sup>57</sup> Esmon CT. Structure and functions of the endothelial cell protein C receptor. *Crit Care Med* 2004; 32 (5S): 298-301.



- 
- <sup>58</sup> Levi M, Poll T. Two ways interactions between inflammation and coagulation. *TCM* 2005; 15 (7): 254-259.
- <sup>59</sup> Pawlinski R, Mackman N. Tissue factor, coagulation proteases, and protease-activated receptors in endotoxemia and sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32 (5S): 293-296.
- <sup>60</sup> Tapper H, Herwald H. Modulation of hemostatic mechanisms in bacterial infectious diseases. *Blood* 2000; 96 (7): 2329-2337.
- <sup>61</sup> Franco RF, De Jorge E, Dekkers PE. The in vivo kinetics of tissue factor messenger RNA expression during human endotoxemia: relationship with activation of coagulation. *Blood* 2000; 96: 554-559.
- <sup>62</sup> Liaw PC. Endogenous protein C activation in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32 (5S): 214-218.
- <sup>63</sup> Van de Wouwer M, Collen D, Conway EM. Thrombomodulin-Protein C-EPCR System: Integrated to regulate coagulation and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1374-1383.
- <sup>64</sup> Macias W, Yan B, Williams M, Um S, Sandusky G, Ballard D, Planquois JM. New insights into the protein C pathway: potencial implications for the biological activities of drotrecogin alfa (activated). *Crit Care* 2005; 9 (4S): 38-45.
- <sup>65</sup> Dile JL, Borgel D. Sepsis and coagulation. *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 454-460.
- <sup>66</sup> Boos C, Goon P, Lip G. The endothelium, inflammation, and coagulation in sepsis. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 79: 20-22.
- <sup>67</sup> Lin MT, Alberston TE. Genomic polymorphisms in sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32 (2): 569-579.
- <sup>68</sup> Leviton A, Dammann. Coagulation , inflammation, and the risk of neonatal white matter damage. *Pediatr Res* 2004; 55: 541-545.
- <sup>69</sup> Afshar-Kharghan V, Thiagarajan. Leukocyte adhesion and thrombosis. *Curr Opin Hematol* 2006; 13: 34-39.
- <sup>70</sup> Haley M, Cui X, Minneci P, Deans K, Natanson C, Eichacker P. Activated protein C in sepsis: emerging insights regarding its mechanism of action and clinical effectiveness. *Curr opin Infect Dis* 2004; 17: 205-211.
- <sup>71</sup> Jagneaux T, Taylor De, Kantrow SP. Coagulation in sepsis. *Am J Med Sci* 2004; 328 (4):196-204.

- 
- <sup>72</sup> Abraham E. Effects of recombinant human activated protein C in human models of endotoxin administration. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2: 243-247.
- <sup>73</sup> Feliu Frasnado E, Aguilar Bascompte JL, Woessner Casas S, Rozman Jurado M<sup>a</sup>, Florensa Brichs L, Vallespí Solé T, San Miguel Izquierdo JL, Orfao de Matos A, Hernández-Rivas JM<sup>a</sup>, Ríos González A, González Díaz M, González-Sarmiento R, Piera Peña C, Ayuso Collela C, Mercader Sobrequés JM<sup>a</sup>, Setoain Perego FJ, Simó Perdigó M. Principios generales de la exploración del enfermo con una hemopatía. En: Farreras-Rozman (eds) *Medicina Interna*, 15<sup>a</sup> ed. Elsevier. 2005: 1615-1644.
- <sup>74</sup> DesouzaI, Franco-Penteado C, Camargo E, Lima C, Teixeira S, Muscará M, Nucci G, Antunes E. Acute pulmonary inflammation by exposure of the airways to staphylococcal enterotoxin type B in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 217 (1): 107-113
- <sup>75</sup> Alves-Filho J, Freitas A, Russo M, Cunha F. Toll-like receptor 4 signaling leads to neutrophil migration impairment in polymicrobial sepsis. *Crit Care Med* 2006; 34 (2): 461-470.
- <sup>76</sup> Martínez JA, Mensa J. Problemas especiales en enfermedades infecciosas. En: Farreras-Rozman (eds) *Medicina Interna*, 15<sup>a</sup> ed. Elsevier. 2005: 2543-2548.
- <sup>77</sup> Joyce D, Nelson D, Grinnell B. Leukocyte and endothelial cell interactions in sepsis: Relevance of the protein C pathway. *Crit Care Med* 2004; 32 (5S): 280-286.
- <sup>78</sup> Skarman PJ, Rahbar A, Xie X, Söderberg-NauclérC. Induction of polymorphonuclear leukocyte response by human cytomegalovirus. *Microbes Infect* 2006; 8 (6): 1592-1601.
- <sup>79</sup> Davis B, Olsen S, Ahmad E, Bigelow N. Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency department patients. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130: 654-661.
- <sup>80</sup> Brown KA, Brath SD, Pearson JD, Edgeworth JD, Lewis SM, Treacher DF. Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis. *Lancet* 2006; 368: 157-169.
- <sup>81</sup> Lingen M. Role of leukocytes and endothelial cells in the development of angiogenesis in inflammation and wound healing. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125 (1): 67-71.
- <sup>82</sup> Weisfelt M, Beek D, Spanjaard L, Reitsma J, Gans J. Attenuated cerebrospinal fluid leukocyte count and sepsis in adults with pneumococcal meningitis: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 149-153.
- <sup>83</sup> Chaves F, Tierno B, Xu D. Neutrophil volume distribution width. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130 (3): 378-380.

- 
- <sup>84</sup> Wile M, Homer L, Gaehler S, Phillips S, Millan J. Manual Differential Cell Counts Help Predict Bacterial Infection. *Am J Clin Pathol* 2001; 155: 644-649.
- <sup>85</sup> Bain B. Diagnosis from the blood smear. *N Engl J Med* 2005; 353: 498-507.
- <sup>86</sup> Maldonado J, Sanz MA, Fontán. Enfermedades del sistema leucocitario. En: Farreras-Rozman (eds) *Medicina Interna*, 15ª ed. Elsevier. 2005: 1669-1679.
- <sup>87</sup> Holland S, Gallin J. Transtornos de los granulocitos y monocitos. En: Harrison (eds) *Principios de Medicina Interna*, 16ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2006: 431-439.
- <sup>88</sup> Kakkar N. Spurious rise in the automated platelet count because of bacteria. *J Clin Pathol* 2004; 57: 1096-1097.
- <sup>89</sup> Myron Jonson A. Amino acids, peptides and proteins. En: Burtis C, Ashwood E, Bruns D (eds) *Tietz textbook of Clinical Chemistry and Molecular diagnostics*. 4ª ed. Elsevier Saunders 2006: 533-595.
- <sup>90</sup> Bergón Jimenez E. Recomendaciones para la medida de la concentración de las proteínas de fase aguda en el plasma. *Quím Clín* 2001; 20 (6): 457-461.
- <sup>91</sup> Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448-454.
- <sup>92</sup> Bristian BR. Acute phase proteins and the systemic inflammatory response. *Crit Care Med* 1999; 27 (3): 452-453.
- <sup>93</sup> Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *J Biol Chem* 2004; 279 (47): 48.487-48.490.
- <sup>94</sup> Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a clinical update. *J Clin Invest* 2003; 111: 1805-1812.
- <sup>95</sup> Bassuk SS, Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: Clinical importance. *Curr Probl Cardiol* 2004; 29 (8): 439-493.
- <sup>96</sup> Edward TH. CRP as a mediator of disease. *Circulation* 2004; 109: 11-14.
- <sup>97</sup> Venugopal SK, Devarj S, Jialal I. Effect of C-reactive protein in vascular cells: evidence for a proinflammatory, proatherogenic role. *Curr Opin Nephrol Hyperts* 2005; 14: 33-37.
- <sup>98</sup> Melbye H, Stocks N. Point of care testing for C-reactive protein. A new path for Australian GPs?. *Aust Fam Physician* 2006; 35 (7):513-516.
- <sup>99</sup> Póvoa P, Coelho L, Almeida E, Fernández A, Mealha R, Moreira P, Sabino H. Early identification of intensive care unit-acquired infections with daily monitoring

---

of C-reactive protein: a prospective observational study. *Crit Care* 2006; 10 (2): R63.

<sup>100</sup> Herrera P, Duffau G. Usefulness of C-reactive protein for the diagnosis of bacterial infections in children. A review. *Rev Méd Chile* 2005; 133: 541-546.

<sup>101</sup> Pullian, PN, Attia MW, Cronan KM. C-Reactive protein in febrile children 1 to 36 months of age with clinically undetectable serious bacterial infection. *Pediatrics* 2001; 108 (6): 1275-1279.

<sup>102</sup> Pulliam O, Attia M, Cronan K. C-reactive protein in febrile children 1 to 36 months of age with clinically undetectable serious bacterial infection. *Pediatrics* 2001; 108 (6): 1275-1279.

<sup>103</sup> Meer V, Knuistingh A, Broek P, Assendelft W. Diagnostic value of C reactive protein in infections of the lower respiratory tract: systematic review. *BMJ* 2005; 331 (7507): 26-31.

<sup>104</sup> Barceló B, Llomparl I, Fuentespina E. Comparación de tres métodos automatizados para la medida con gran detectabilidad de la proteína C reactiva. *Quim Clin* 2005; 24. 25-30.

<sup>105</sup> Roberts W, Schwarz E, Allanan S, Rifai N. Performance characteristics of a point of care C-reactive protein assay. *Clin Chim Acta* 2001; 314: 255-259.

<sup>106</sup> Vincent JL. Procalcitonin: The marker of sepsis?. *Crit Care Med* 2000; 28 (4): 1226-1228.

<sup>107</sup> Boucher B. Procalcitonin: Clinical tool or laboratory curiosity?. *Crit Care Med* 2000; 28 (4): 1224-1225.

<sup>108</sup> Russwurm S, Oberhoffer M, Zipfel P, Reinhart K. Procalcitonin- a novel biochemical marker for the mediator-directed therapy of sepsis. *Mol Med Today* 1999; 5: 286-287.

<sup>109</sup> Christ-Crain M, Müller B. Procalcitonin in bacterial infections-hype, hope more or less?. *Swiss Med Wkly* 2005; 135: 451-460.

<sup>110</sup> Gendrel D, Bohuon C. Procalcitonin, a marker of bacterial infection. *Infection* 1997; 25 (3): 133-134.

<sup>111</sup> Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993; 34: 515-518.

<sup>112</sup> Casado J, Blanco A. Procalcitonina: un nuevo marcador de infección bacteriana. *An Esp Pediatr* 2001; 54: 69-73.

- 
- <sup>113</sup> Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection : A systematic review and meta-analysis. *CID* 2004; 39: 206-217.
- <sup>114</sup> Hausfater P. Le dosage de la procalcitonine en pratique clinique chez l'adulte. *Rev Med Interne* 2007; 28 (5): 296-305.
- <sup>115</sup> Whang K, Steinwald P, White J, Nylen E, Snider R, Simon G, Goldberg R, Becker K. Serum calcitonin precursors in sepsis and systemic inflammation. *J Clin Endo Met* 1998; 83 (9): 3296-3301.
- <sup>116</sup> Ferrière F. Intérêt de la procalcitonine, nouveau marqueur de l'infection bactérienne. *Ann Biol Clin* 2000; 58: 49-59.
- <sup>117</sup> Monneret G, Pachot A, Laroche B, Picollet J, Bienvenu J. Procalcitonin and calcitonin gene-related peptide decrease LPS-induced TNF production by human circulating blood cells. *Cytokine* 2000; 12 (6): 762-764.
- <sup>118</sup> Steinbach G, Grunert A. Procalcitonin- a new indicator for bacterial infections. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1998; 106 (3): 164-167.
- <sup>119</sup> Steinwald P, Whang K, Becker K, Snider R, Nylen E, White J. Elevated calcitonin precursor levels are related to mortality in an animal model of sepsis. *Crit Care* 1999; 3 (1): 11-16.
- <sup>120</sup> Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 483-493.
- <sup>121</sup> Nijsten M, Olinga P, The H, de Vries E, Schraffordt H, Groothuis G, Limburg P, ten Duis H, Moshage H, Hoekstra H, Bijzet J, Zwaveling J. Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein *in vivo* and *in vitro*. *Crit Care Med* 2000; 28 (2): 458-461.
- <sup>122</sup> Gendrel D, Bohuon C. Procalcitonin as a marker of bacterial infection. *Pediatr Infect Dis-J* 2000; 19 (8): 679-688.
- <sup>123</sup> Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, Stonane E, Vogelsang H, Jager L, Reinhart K. Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines *in vitro*. *J Lab Clin Med* 1999; 134: 49-55.
- <sup>124</sup> Oberhoffer M, Vogelsang H, Jager L, Reinhart K. Katalcalcin and calcitonin immunoreactivity in different types of leukocytes indicate intracellular procalcitonin content. *J Crit Care* 1999; 14: 29-33.
- <sup>125</sup> Monneret G, Laroche B, Bienvenu J. Procalcitonin is not produced by circulating blood cells. *Infection* 1999; 27 (1): 34-35.

- 
- <sup>126</sup> Russwurm S, Wiederhold M, Oberhoffer M, Stonans I, Zipfel PF, Reinhart K. Molecular aspects and natural source of procalcitonin. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37 (8): 789-797.
- <sup>127</sup> Nishikura T. Procalcitonin (PCT) production in a thyroidectomized patient. *Intensive Care Med* 1999; 25 (9): 1031.
- <sup>128</sup> Müller B, White J, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF. Ubiquitous expression of the calcitonin-I gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrin Met* 2001; 86: 396-404.
- <sup>129</sup> Nylén ES, Whang KT, Snider RH, Steinwald PM, White JC, Becker KL. Mortality is increased by procalcitonin and decreased by antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. *Crit Care Med* 1998; 26 (6): 1001-1006.
- <sup>130</sup> Preas HL, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, White JC, Agosti JM, Suffredini AF. Effects of anti-inflammatory agents on serum levels of calcitonin precursors during human experimental endotoxemia. *J Infect Diseases* 2001; 184: 373-376.
- <sup>131</sup> Jorgensen PF, Wang JE, Solberg R, Thiemermann C, Foster SJ, Aasen AO. Procalcitonin does not influence the surface expression of inflammatory receptors on whole blood leukocytes. *Intensive Care Med* 2001; 27: 430-433.
- <sup>132</sup> Braithwaite S. Procalcitonin – marker, or mediator. *Crit Care Med* 1998; 26 (6): 977-978.
- <sup>133</sup> Wagner KE, Martinez JM, Vath SD, Snider R, Nylén ES, Becker KL, Müller B, White JC. Early immunoneutralization of calcitonin precursors attenuates the adverse physiologic response to sepsis in pigs. *Crit Care Med* 2002; 30 (10): 2313-2321.
- <sup>134</sup> Kisson N. Modulating nitric oxide synthesis: Another contender enters the ring. *Crit Care Med* 2001; 29 (1): 214-215.
- <sup>135</sup> Hoffman G, Totzke G, Seibel M, Amolny M, Wiedermann F, Schobersberger W. *In vitro* modulation of inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide synthesis by procalcitonin. *Crit Care Med* 2001; 29 (1): 112-116.
- <sup>136</sup> Wrenger S, Kahna T, Bohuon C, Weglohner W, Ansorge S, Reinhold D. Amino-terminal truncation of procalcitonin, a marker for systemic bacterial infections, by dipeptidyl peptidase IV (DP IV). *FEBS- Lett* 2000; 466 (1): 155-159.
- <sup>137</sup> Snider RH, Nylén ES, Becker KL. Procalcitonin and its component peptides in systemic inflammation: immunochemical characterization. *J Investig Med* 1997; 45 (9): 552-560.
- <sup>138</sup> St-Louis P. Procalcitonin as a marker of sepsis. *Crit Trends* 2001; 16 (1): 3-6.

- 
- <sup>139</sup> Braithwaite S. Procalcitonin: new insights on regulation and origin. *Crit Care Med* 2000; 28 (2): 586-588.
- <sup>140</sup> Nishikura T. The clearance of procalcitonin (PCT) during continuous veno-venous hemodiafiltration (CVVHD). *Intensive Care Med* 1999; 25: 1198-1201.
- <sup>141</sup> Brunkhorst FM, Heinz U, Forycki ZF. Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive Care Med* 1998; 24: 888-892.
- <sup>142</sup> d'Hermomez, Leclere L, Vantighem MC, Fourrier F, proye C, Wemeau JL. Clinical evaluation of a new sensitive calcitonin assay: study of specificity. *Clin Chim Acta* 2001; 311 (2): 149-155.
- <sup>143</sup> Guérin S. Evaluation de la détection de la procalcitonine par technique immunochromatographique: test PCT-Q de Brahms. *Ann Biol Clin* 2000; 58: 613-614.
- <sup>144</sup> Steinbach G, Rau B, Debard AL, Javourez JF, Bienvenu J, Ponzio A, Bonfà A, Hubl W, Demant T, Külpmann WR, Buchholz J, Schumann G. Multicenter evaluation of a new immunoassay for procalcitonin measurement on the Kryptor® System. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42 (4): 440-449.
- <sup>145</sup> Meisner M. Procalcitonin (PCT). En: Meisner (eds) 3<sup>a</sup> ed. Thieme 2001: 162-175.
- <sup>146</sup> Meisner M, Tschaikowsky K, Schnabel S, Schmidt J, Katalinic A, Schuttler J. Procalcitonin- influence of temperature, storage, anticoagulation and arterial or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentrations. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35 (8): 597-601.
- <sup>147</sup> Foz Sala M, Lucas Martín A, Bueno Jiménez C, Sanmartí Sala A. Enfermedades de la glándula tiroides. En: Farreras-Rozman (eds) *Medicina Interna*, 15<sup>a</sup> ed. Elsevier. 2005: 2053-2060.
- <sup>148</sup> Eberhard OK, Haubitz M, Brunkhorst FM, Kliem V, Koch KM, Brunkhorst R. Usefulness of procalcitonin for differentiation between activity of systemic autoimmune disease (Systemic Lupus Erythematosus/Systemic antineutrophil cytoplasmatic antibody-associated vasculitis) and invasive bacterial infection. *Arthritis-Rheum* 1997; 40 (7): 1250-1256.
- <sup>149</sup> Schwenger V, Sis J, Breitbart A, Andrassy K. CRP levels in autoimmune disease can be specified by measurement of procalcitonin. *Infection* 1998; 26 (5): 274-276.
- <sup>150</sup> Moosig F, Reinhold-Keller E, Csernok E, Gross WL. Limitations on the usefulness of procalcitonin as a marker of infection in patients with systemic autoimmune disease: comment on the article by Eberhard et al. *Arthritis-Rheum* 1997; 40 (8): 566-568.
- <sup>151</sup> Huber W, Scheigart U, Bottermann P. Failure of PCT to indicate severe fungal infection in two immunodeficient patients. *Infection* 1997; 25 (7): 377-378.

- 
- <sup>152</sup> Scire CA, Cavagna L, Perotti C, Bruschi E, Caporali R, Montecucco C. Diagnostic value of procalcitonin measurement in febrile patients with systemic autoimmune diseases. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24 (2): 123-128.
- <sup>153</sup> Okada Y, Minakami H, Tomomasa T, Kato M, Inoue Y, Kozawa K, Kimura H, Morikawa A. Serum procalcitonin concentration in patients with Kawasaki disease. *J Infect* 2004; 48 (2): 199-205.
- <sup>154</sup> Butbul-Aviel Y, Koren A, Halevy R, Sakran W. Procalcitonin as a diagnostic aid in osteomyelitis and septic arthritis. *Pediatr Emerg Care* 2005; 21 (12): 828-832.
- <sup>155</sup> Korsczowski B. Serum procalcitonin concentration in children with liver disease. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25 (3): 268-269.
- <sup>156</sup> Dehne MG, Sablotzki A, Hoffmann A, Mühling J, Dietrich FE, Hempelmann G. Alterations of acute phase reaction and cytokine production in patients following severe burn injury. *Burns* 2002; 28 (6): 535-542.
- <sup>157</sup> Nelly AN, Fowler LA, Kagan RJ, Warden GD. Procalcitonin in pediatric burn patients: an early indicator of sepsis?. *J Burn Care Rehabil* 2004; 25 (1): 76-80.
- <sup>158</sup> Sachse C, Machens HG, Felmerer G, Berger A, Henkel E. Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of severe infection after thermal injury. *J Burn Care Rehabil* 1999; 20 (5): 354-360.
- <sup>159</sup> Heimburg D, Stieghorst W, Khorram-Sefat R, Pallua N. Procalcitonin a sepsis parameter in severe burn injuries. *Burns* 1998; 24: 745-750.
- <sup>160</sup> Purkayastha S, Chow A, Athanasiou T, Cambaroudis A, Panesar S, Kinross J, Tekkis P, Darzi A. Does serum procalcitonin have a role in evaluating the severity of acute pancreatitis? A question revisited. *World J Surg* 2006; 30 (9): 1713-1721.
- <sup>161</sup> Melzi GV, Merlín G, Finazzi S, Bososni T, Barakat B, Pezzilli R. Procalcitonin is not a reliable marker for the assessment of severity in acute pancreatitis without infectious complications. *Clin Chem* 2000; 46 (3): 428-430.
- <sup>162</sup> Shafiq N, Malhotra S, Bhasin D, Rana S, Siddhu S, Pandhi P. Estimating the diagnostic accuracy of procalcitonin as a marker of the severity of acute pancreatitis: A meta-analytic approach. *JOP* 2005; 6 (2): 231-237.
- <sup>163</sup> Müller CA, Printzen G, Gloor B, Bischofberger H, Tcholakov O, Büchler MW. Role of procalcitonin and granulocyte colony stimulating factor in the early prediction of infected necrosis in severe acute pancreatitis. *Gut* 2000; 46: 233-238.
- <sup>164</sup> Matull WR, Pereira SP, O'Donohue JW. Biochemical markers of acute pancreatitis. *J Clin Pathol* 2006; 59: 340-344.



- 
- <sup>165</sup> Rau B, Steinbach G, Gansauge F, Mayer JM, Grünert A, Beger HG. The potential role of procalcitonin and interleukin 8 in the prediction of infected necrosis in acute pancreatitis. *Gut* 1997; 41 (6): 832-840.
- <sup>166</sup> Dambrauskas Z, Pundzius J, Barauskas G. Predicting development of infected necrosis in acute necrotizing pancreatitis. *Medicina (Kaunas)* 2006; 42 (6): 441-449.
- <sup>167</sup> Al-Bahrani AZ, Ammori BJ. Clinical laboratory assessment of acute pancreatitis. *Clin Chim Acta* 2005, 362: 26-48.
- <sup>168</sup> Lipsett P, Hopkins J. Serum cytokines, proteins, and receptors in acute pancreatitis: Mediators, markers, or more of the same?. *Crit Care Med* 2001; 29 (8): 1642-1644.
- <sup>169</sup> Kylänpää-Bäck ML, Takala A, Kemppainen EA, Puolakkainen PA, Leppäniemi AK, Karonen SL, Orpana A, Haapiainen RK, Repo H. Procalcitonin, soluble interleukin-2 receptor, and soluble E-selectin in predicting the severity of acute pancreatitis. *Crit Care Med* 2001; 29 (1): 63-69.
- <sup>170</sup> Kouame DB, Garrigue MA, Lardy H, Machet MC, Giraudeau B, Robert M. La procalcitonine peut-elle aider au diagnostic des appendicitis de l'enfant?. *Ann Chir* 2005; 130 (3):169-174.
- <sup>171</sup> Viallon A, Zeni F, Pouzet V, Quenet S, Aubert G, Guyomarch S, Tardy B, Bertrd JC. Serum and ascitic procalcitonin levels in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis: diagnostic value and relationship to pro-inflammatory cytokines. *Intensive Care Med* 2000; 26: 1082-1088.
- <sup>172</sup> Rau BM, Frigerio I, Buchler MW, Wegscheider K, Bassi C, Puolakkainen PA, Beger HG, Schilling MK. Evaluation of procalcitonin for predicting septic multiorgan failure and overall prognosis in secondary peritonitis: a prospective, international multicenter study. *Arch Surg* 2007; 142 (2): 134-142.
- <sup>173</sup> Spahr L, Morard I, Hadengue A, Vadas L, Pugin J. Procalcitonin is not accurate marker of spontaneous bacterial peritonitis in patients with cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2001; 48 (38): 502-505.
- <sup>174</sup> Guz G, Colak B, Hizel K, Reis KA, Erten Y, Bali M, Sindel S. Procalcitonin and conventional markers of inflammation in peritoneal dialysis patients and peritonitis. *Perit Dial Int* 2006; 26 (2): 240-248.
- <sup>175</sup> Hollenstein U, Looareesuwan S, Aichelburg F, Thalhammer F, Stoiser B, Amradee S, Chullawichit S, El Menyawi I, Burgmann H. Serum procalcitonin levels in severe *Plasmodium Falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59 (6): 860-863.
- <sup>176</sup> Manegold C, Schmiedel S, Chiwakata CB, Dietrich M. Procalcitonin serum levels in tertian malaria. *Mal J* 2003; 2: 34-36.

- 
- <sup>177</sup> Uzzan B, Izri A, Durand R, Deniau M, Bouchaud O, Perret GY. FERUM procalcitonin in uncomplicated falciparum malaria: a preliminary study. *Travel Med Infect Dis* 2006; 4 (2): 77-80.
- <sup>178</sup> Franke A, Lante W, Fackeldey V, Becker HP, Kurig E, Zöller LG, Weinhold C, Markewitz A. Pro-inflammatory cytokines after different kinds of cardio-thoracic surgical procedures: is what we see what we know?. *Eur J Cardithorac Surg* 2005; 28 (4): 569-575.
- <sup>179</sup> Sponholz C, Sakr Y, Reinhart K, Brunkorst F. Diagnostic value and prognostic implications of serum procalcitonin after cardiac surgery: a systematic review of the literature. *Crit Care* 2006; 10 (5): 145-156.
- <sup>180</sup> Choussat R, Montalescot G, Collet, JP, Jardel C, Ankri A, Fillet AM, Thomas D, Raymond J, Bastard J-P, Drobinski G, Orfila J, Agut H, Thomas D. Effect of Prior Exposure to Chlamydia Pneumoniae, Helicobacter Pylori, or Citomegalovirus on the Degree of Inflammation and One-Year Prognosis of Patients with Unstable Angina Pectoris or Non-Q-Wave Acute Myocardial Infarction. *Am J Cardiol* 2000; 89: 379-384.
- <sup>181</sup> Lecharny J-B, Khater D, Bronchard R, Phillip I, Durand G, Desmonts JM, Dehoux, M. Hyperprocalcitonemia in patients with perioperative myocardial infarction after cardiac surgery. *Crit Care Med* 2001; 29 (2): 323-325.
- <sup>182</sup> Aouifi A, Piriou V, Blanc P, Bouvier H, Bastien O, Chiari P, Rousson R, Evans R, Lehot JJ. Effect of cardiopulmonary bypass on serum procalcitonin and C-reactive protein concentrations. *Br J Anaesth* 1999; 83 (4): 602-607.
- <sup>183</sup> Wagner FD, Jonitz B, Potapov EV, Qedra N, Wegscheider K, Abraham K, Ivanitskaia EA, Loebe M, Hetzer R. Procalcitonin, a donor-specific predictor of early graft failure related mortality after heart transplantation. *Circulation* 2001; 104 (1S): 192-196.
- <sup>184</sup> Aouifi A, Piriou V, Bastien O, Blanc P, Bouvier H, Evans R, Célard M, Vandenesch F, rousson R, Lehot JJ. Usefulness of procalcitonin for diagnosis of infection in cardiac surgical patients. *Crit Care Med* 2000; 28 (9): 3171-3176.
- <sup>185</sup> Bortone A, D'Agostino D, Schena S, Rubini G, Brindicci P, Sardaro V, D'Addabbo A, Tupputi L. Inflammatory response and angiogenesis after percutaneous transmyocardial laser revascularization. *Ann Thorac Surg* 2000; 70: 1134-1138.
- <sup>186</sup> Carlstedt F, Lind L, joachimsson P. O, Rastad J, Wides L, Ljunghall S. Circulating ionized calcium and parathyroid hormone levels following coronary artery by-pass surgery. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 47-54.
- <sup>187</sup> Rothenburger M, Markewitz A, Lenz T, Kaulbach H-G, Kuhlmann W-D, Weinhold C. Detection of acute phase response and infection. The role of procalcitonin and C-reactive protein. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37 (3): 275-279.

- 
- <sup>188</sup> Bitkover CY, Hansson LO, Valen G, Vaage J. Effects of cardiac surgery on some clinically used inflammation markers and procalcitonin. *Scand Cardiovasc J* 1999; 34: 307-314.
- <sup>189</sup> Kerbaul F, Giorgi R, Oddoze C, Collart F, Guidon C, Lejeune P.L, Villacorta J, Gouin F. High concentrations of N-BNP are related to non-infectious severe SIRS associated with cardiovascular dysfunction occurring after off-pump coronary artery surgery. *Br J Anaesth* 2004; 93 (5): 639-644.
- <sup>190</sup> Kerbaul F, Collart F, Giorgi R, Oddoze C, Lejeune PJ, Guidon C, Caus T, Bellezza M, Gouin F. Increased plasma levels of pro-brain natriuretic peptide in patients with cardiovascular complications following off-pump coronary artery surgery. *Intensive Care Med* 2004; 30 (9): 1799-1806.
- <sup>191</sup> Price S, Evans T. Bacterial translocation in cardiopneumonic shock: the gastrointestinal tract as the motor of sepsis?. *Inter J Cardiology* 1999; 72: 11-12.
- <sup>192</sup> Brunkhorst FM, Clark AL, Forycki ZF, Ander SD. Pyrexia, procalcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: the potential importance of bacterial translocation. *Inter J Cardiology* 1999; 72: 3-10.
- <sup>193</sup> Brunkhorst FM. Endotoxins in chronic heart failure. *Lancet* 1999; 364: 599-600.
- <sup>194</sup> Hammer S, Loeff M, Reichenspurner H, Daebritz S, Tiete A, Kozlik-Feldmann R, Reichart B, Netz H. Effect of cardiopulmonary bypass on myocardial function, damage and inflammation after cardiac surgery in newborns and children. *Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 49: 349-354.
- <sup>195</sup> Selebi S, Koner O, Menda F, Balci H, Hatemi A, Korkut K, Esen F. Procalcitonin kinetics in pediatric patients with systemic inflammatory response after open heart surgery. *Intensive Care Med* 2006; 32 (6): 881-887.
- <sup>196</sup> Arkader R, Troster EJ, Monteiro A, Rezende M, Raiz R, Carcillo J, Suely T. Procalcitonin and C-reactive protein kinetics in postoperative pediatric cardiac surgical patients. *J Cardiothorac Vasc Anaesth* 2004; 18 (2): 160-165.
- <sup>197</sup> Michalik DE, Duncan BW, Mee RB, Worley S, Goldfarb J, Danziger-Isakov LA, Davis SJ, Harrison AM, Appachi E, Sabella C. Quantitative analysis of procalcitonin after pediatric cardiothoracic surgery. *Cardiol Young* 2006; 16 (1): 48-53.
- <sup>198</sup> Gerard Y, Hober D, Assicot M, Alfandari S, Ajana F, Bourez JM, Chidiac C, Mouton Y, Bohuon C, Watre P. Procalcitonin as a marker of bacterial sepsis in patients infected with HIV-1. *J Infect* 1997; 35: 41-46.
- <sup>199</sup> Schleicher GK, Herbert V, Brink A, Martin S, Maraj R, Galpón JS, Feldman C. Procalcitonin and C-reactive protein levels in HIV-positive subjects with tuberculosis and pneumonia. *Eur Respir J* 2005; 25 (4): 688-692.

- 
- <sup>200</sup> Kallio R, Surcel HM, Bloigu A, Syrjala H. C-reactive protein, procalcitonin and interleukin-8 in the primary diagnosis of infections in cancer patients. *Eur J Cancer* 2000; 36: 889-894.
- <sup>201</sup> Giamarellos-Bourboulis EJ, Grecka P, Poulakou G, Anargyrou K, Katsilambros N, Giamarellou H. Assessment of procalcitonin as a diagnostic marker of underlying infection in patients with febrile neutropenia. *CID* 2001; 32: 1718-1725.
- <sup>202</sup> Sudhoff T, Giagounidis A, Karthaus M. Evaluation of neutropenic fever: value of serum and plasma parameters in clinical practice. *Chemotherapy* 2000; 46: 77-85.
- <sup>203</sup> Ruokonen E, Nousiainen T, Pulkki K, Takala J. Procalcitonin concentrations in patients with neutropenic fever. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 283-285.
- <sup>204</sup> Bernard L, Ferrière F, Casassus P, Malas F, Lévêque S, Guillevin L, Lortholary O. Procalcitonin as an early marker of bacterial infection in severely neutropenic febrile adults. *CID* 1998; 27: 914-915.
- <sup>205</sup> Engel A, Steinbach G, CERN P, V. Kern W. Diagnostic value of procalcitonin serum levels in neutropenic patients with fever: comparison with interleukin-8. *Scand J Infect Dis* 1999; 31: 185-189.
- <sup>206</sup> Lilienfeld-Toal M, Dietrich M.P, Glasmacher A, Lehmann L, Breig P, Hahn C, Schmidt-Wolf I, Marklein G, Schroeder S, Stuber F. Markers of bacteremia in febrile neutropenic patients with haematological malignancies: procalcitonin and IL-6 are more reliable than C-reactive protein. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23 (7): 539-544.
- <sup>207</sup> Secmeer G, Devrim I, Kara A, Ceyhan M, Cengiz B, Kutluk T, Buyukpamukcu M, Yetgin S, Tuncer M, Kerem A, Tezer H, Yildirim I. Role of procalcitonin and CRP in differentiating a stable from a deteriorating clinical course in pediatric febrile neutropenia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007; 29 (2):107-111.
- <sup>208</sup> Ciaccio M, Fugardi G, Titone L, Romano A, Giordano S, Bivona G, Scarlata F, Vocca L, Di Gangi M. Procalcitonin levels in plasma in oncohaematologic patients with and without bacterial infections. *Clin Chim Acta* 2004; 340 (1-2): 149-152.
- <sup>209</sup> Hazelzet JA. Diagnosing meningococemia as a cause of sepsis. *Pediatr Crit Care* 2005; 6 (3): 50-54.
- <sup>210</sup> Schwarz S, Bertram M, Schwab S, Andrassy K, Hacke W. Serum procalcitonin levels in bacterial and abacterial meningitis. *Crit Care Med* 2000; 28 (6): 1828-1832.
- <sup>211</sup> Viallon A, Zeni F, Lambert C, Pozzeto B, Tardy B, Venet C, Bertrand JC. High sensibility and specificity of serum procalcitonin levels in adults with bacterial meningitis. *Clin Inf Diseases* 1999; 28: 1313-1316.

- 
- <sup>212</sup> Jereb M, Muzlovic I, Hojker S, Strle F. Predictive value of serum and cerebrospinal fluid procalcitonin levels for the diagnosis of bacterial meningitis. *Infection* 2001; 29 (4): 209-212.
- <sup>213</sup> Ray P, Badarou-Acosi G, Viallon A, Boutoille D, Arthaud M, Trystram D, Riou B. Accuracy of the cerebrospinal fluid results to differentiate bacterial from non bacterial meningitis, in case of negative gram-stained smear. *Am J Emerg Med* 2007; 25 (2):179-184.
- <sup>214</sup> Hoffmann O, Reuter U, Masuhr F, Holtkamp M, Kassim N, Weber JR. Low sensitivity of serum procalcitonin in bacterial meningitis in adults. *Scand J Infect Dis* 2001; 33: 215-218.
- <sup>215</sup> Gendrel D, Raymond J, Assicot M, Moulin F, Iniguez JL, Lebon P, Bohuon C. Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial or viral meningitis. *Clin Inf Diseases* 1997; 24: 1240-1242.
- <sup>216</sup> Gendrel D, Raymond J, Assicot M, Avenel S, Lefèvre H, Ravilly S, Moulin F, Lacombe C, Palmer P, Lebon P, Bohuon C. Procalcitonine, protéine C-réactive et interleukine 6 dans les méningites bactériennes et virales de l'enfant. *Press Med* 1998; 27 (23) : 1135-1139.
- <sup>217</sup> Mills GD, Lala HM, Oehley MR, Craig AB, Barratt K, Thornley CN, Desdale A, Manikkam NE, Reeve P. Elevated procalcitonin as a diagnostic marker in meningococcal disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25: 501-509.
- <sup>218</sup> Taskin E, Turgut M, Kilic M, Akbulut H, Aygun D. Serum procalcitonin and cerebrospinal fluid cytokines level in children with meningitis. *Mediators Inflamm* 2004; 13 (4): 269-273.
- <sup>219</sup> Dubos F, Moulin F, Gajdos V, de Suremain N, Biscardi S, Lebon P, Raymond J, Breart G, Gendrel D, Chalumeau M. Serum procalcitonin and other biologic markers to distinguish between bacterial and aseptic meningitis. *J Pediatr* 2006; 149 (1): 72-76.
- <sup>220</sup> Viallon A, Guyomarc'h P, Guyomarc'h S, Tardy B, Robert F, Marjollet O, Caricajo A, Lambert C, Zéni F, Bertrand JC. Decrease in serum procalcitonin levels over time during treatment of acute bacterial meningitis. *Crit Care* 2005; 9 (4): 344-350.
- <sup>221</sup> Feldman C. Clinical relevance of antimicrobial resistance in the management of pneumococcal community-acquired pneumonia. *J Lab Clin Med* 2004; 143 (5): 269-283.
- <sup>222</sup> Low D, Mazzulli T, Marrie T. Progressive and nonresolving pneumonia. *Curr Opin Pulm Med* 2005; 11: 247-252.
- <sup>223</sup> Hoare Z, Shen W. Pneumonia: update on diagnosis and management. *BMJ* 2006; 332 (7549): 1077-1079.

- 
- <sup>224</sup> García de Lomas J, García-Rey C, López L, Gimeno C, Spanish Surveillance Group for respiratory pathogens. Susceptibility patterns of bacteria causing community-acquired respiratory infections in Spain: the SAUCE project. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50 (2S): 21-26.
- <sup>225</sup> Gendrel D. Pneumonies communautaires de l'enfant: étiologie et traitement. *Arch Pédiatr* 2002; 9: 278-288.
- <sup>226</sup> Langley J, Bradley J. Defining pneumonia in critically ill infants and children. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6 (3 Suppl): S9- S13.
- <sup>227</sup> Nylen ES, Snider RH, Thompson KA, Rohatgi P, Becker KL. Pneumonitis-associated hyperprocalcitoninemia. *Am J Med Sci* 1996; 312 (1): 12-18.
- <sup>228</sup> Hedlund J, Hansson LO. Procalcitonin and C-reactive protein levels in community-acquired pneumonia: correlation with etiology and prognosis. *Infection* 2000; 28 (2): 68-73.
- <sup>229</sup> Brunkhorst FM, Al-Nawas B, Krummenauer F, Forycki ZF, Shah PM. Procalcitonin, C-reactive protein and APACHE II score for risk evaluation in patients with severe pneumonia. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8 (2): 93-100.
- <sup>230</sup> Jereb M, Kotar T. Usefulness of procalcitonin to differentiate typical from atypical community-acquired pneumonia. *Wien Klin Wochenschr* 2006; 118 (5-6): 170-174.
- <sup>231</sup> Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay M, Huber P, Tamm M, Müller B. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet* 2004; 363 (9409): 600-607.
- <sup>232</sup> Soto G. Diagnostic strategies for nosocomial pneumonia. *Curr Opin Pulm Med* 2007; 13 (3): 186-191.
- <sup>233</sup> Müller B, Harbarth S, Stolz D, Bingisser R, Mueller C, Leuppi J, Nusbaumer C, Tamm M, Christ-Crain M. Diagnostic and prognostic accuracy of clinical and laboratory parameters in community-acquired pneumonia. *BMC Infect Dis* 2007; 2 (7): 10-19.
- <sup>234</sup> Zarka V, Valat C, Lemarié E, Boissinot E, Carré P, Besnard JC, Diot P. Procalcitonine sérique et pathologie infectieuse respiratoire. *Rev Pneumol Clin* 1999; 55 (6): 565-569.
- <sup>235</sup> Polzin A, Pletz M, Erbes R, Raffenberg M, Mauch H, Wagner S, Arndt G, Lode H. Procalcitonin as a diagnostic tool in lower respiratory tract infections and tuberculosis. *Eur Respir J* 2003; 21: 939-943.

- 
- <sup>236</sup> Toikka P, Irjala K, Juvén T, Virkki R, Mertsola J, Leinonen M, Ruuskanen O. Serum procalcitonin, C-reactive protein and interleukin-6 for distinguishing bacterial and viral pneumonia in children. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19 (7): 598-602.
- <sup>237</sup> Prat C, Dominguez J, Rodrigo C, Jiménez M, Azuara M, Jiménez O, Galí N, Auxina V. Procalcitonin, C-reactive protein and leukocyte count in children with respiratory tract infection. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 55: 963-967.
- <sup>238</sup> García-Zarza E, Ramos JT, Rubio B, Corrales E, Zeballos G, Herrera J. Utilidad de la procalcitonina sérica en la orientación etiológica de los niños con neumonía adquirida en la comunidad. *An Pediatr (Barc)* 2004; 60 (3): 279-281.
- <sup>239</sup> Michelow I, Olsen K, Lozano J, Rollins N, Duffy L, Ziegler T, Kauppi J, Linonen M, McCracken G. Epidemiology and clinical characteristics of Community-Acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics* 2004; 113: 701-707.
- <sup>240</sup> Korppi M, Remes S. Serum procalcitonin in pneumococcal pneumonia in children. *Eur Respir J* 2001; 7 : 623-627.
- <sup>241</sup> Don M, Valent F, Korppi M, Falletti E De Candia A, fasoli L, Tenore A, Canciani M. Efficacy of serum procalcitonin in evaluating severity of community-acquired pneumonia in childhood. *Scand J Infect Dis* 2007; 39 (2):129-137.
- <sup>242</sup> Duflo F, Debon R, Monneret G, Bienvenu J, Chassard D, Allaouchiche B. Alveolar and serum procalcitonin. Diagnostic and prognostic value in ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology* 2002; 96 (1): 74-79.
- <sup>243</sup> Seligman R, Meisner M, Lisboa T, Hertz F, Filippin T, Fachel J, Texeira P. Decrease in procalcitonin and C-reactive protein are strong predictors of survival in ventilator-associated pneumonia. *Crit Care* 2006; 10: 125-133.
- <sup>244</sup> Brunkhorst FM, Eberhard OK, Brunkhorst R. Discrimination of infectious and noninfectious causes of early acute respiratory distress syndrome by procalcitonin. *Crit Care Med* 1999; 27 (10): 2172-2176.
- <sup>245</sup> Dalton H. Procalcitonin: A predictor of lung injury attributable to sepsis. *Crit Care Med* 1999; 27 (10): 2304-2305.
- <sup>246</sup> Müller B, Becker KL, Schächinger H, Rickenbacher PR, Huber PR, Zimmerli W, Ritz R. Calcitonin precursors are reliable markers in a medical intensive care unit. *Crit Care Med* 2000; 28 (4): 977-983.
- <sup>247</sup> Oberhoffer M, Karzai W, Meier-Hellmann A, Bögel D, Fabbinder J, Reinhart K. Sensitivity and specificity of various markers of inflammation for the prediction of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 in patients with sepsis. *Crit Care Med* 1999; 27 (9): 1814-1818.

- 
- <sup>248</sup> Selberg O, Hecker H, Martin M, Klos A, Bautsch W, Köhl J. Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med* 2000; 28 (8): 2793-2798.
- <sup>249</sup> Redl H, Schlag G, Tögel E, Assicot M, Bohuon C. Procalcitonin release patterns in a baboon model of trauma and sepsis: Relationship to cytokines and neopterin. *Crit Care Med* 2000; 28 (11): 3659-3663.
- <sup>250</sup> Clec'h C, Ferriere F, Karoubi P, Fosse JP, Cupa M, Hoang P, Cohen Y. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32 (5): 1166-1169.
- <sup>251</sup> Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, Cucherat M, Perret GY. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: A systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2006; 34 (7): 1996-2003.
- <sup>252</sup> Karzai W, Oberhoffer M, Meier-Hellmann A, Reinhart K. Procalcitonin-A new indicator of the systemic response to severe infections. *Infection* 1997; 25 (6): 329-334.
- <sup>253</sup> Benoist JF, Mimoz O, Assicot M, Edouard A. Serum procalcitonin, but not C-reactive protein, identifies sepsis in trauma patients. *Clin Chem* 1998; 44 (8): 1778-1779.
- <sup>254</sup> Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, Vadas L, Pugin J. Diagnostic Value of Procalcitonin, Interleukin-6, and Interleukin-8, in Critically Ill Patients Admitted with Suspected Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 396-402.
- <sup>255</sup> Meisner M, Adina H, Schmidt J. Correlation of procalcitonin and C-reactive protein to inflammation, complications, and outcome during the intensive care unit course of multiple-trauma patients. *Crit Care* 2006; 10: 1.
- <sup>256</sup> Heper Y, Akalin EH, Mistik R, Töre O, Göral G, Oral B, Budak F, Helvacı S. Evaluation of serum C-reactive protein, procalcitonin, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-10 levels as diagnostic and prognostic parameters in patients with community-acquired sepsis, severe sepsis, and septic shock. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25: 481-491.
- <sup>257</sup> Mimoz O, Benoist JF, Edouard AR, Assicot M, Bohuon C, Samii K. Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med* 1998; 24: 185-188.
- <sup>258</sup> Lind L, Carlstedt F, Rastad J, Stiernström H, Stridsberg M, Ljunggren O, Wide L, Larsson A, Hellman P, Ljunghall S. Hypocalcemia and parathyroid hormone secretion in critically ill patients. *Crit Care Med* 2000; 28 (1): 93-99.



- 
- <sup>259</sup> Oberhoffer M, Vogelsang H, Rubwurm S, Hartung T, Reinhart K. Outcome prediction by traditional and new markers of inflammation in patients with sepsis. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37 (3): 363-368.
- <sup>260</sup> Herrmann W, Ecker D, Quast S, Klier M, Rose S, Marzi I. Comparison of procalcitonin, sCD14 and interleukin-6 values in septic patients. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38 (1): 41-46.
- <sup>261</sup> Wanner G, Keel M, Steckholzer U, Beier W, Stocker R, Ertel W. Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure, and mortality in injured patients. *Crit Care Med* 2000; 28 (4): 950-957.
- <sup>262</sup> Schröder J, Staubach KH, Zabel P, Stüber F, Kremer B. Procalcitonin as a marker of severity in septic shock. *Langenbeck's Arch Surg* 1999; 384: 33-38.
- <sup>263</sup> Mitaka C. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. *Clin Chim Acta* 2005; 351 (1): 17-29.
- <sup>264</sup> Jensen JU, Heslet L, Jensen TH, Espersen K, Steffensen P, Tvede M. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. *Crit Care Med* 2006; 34 (10): 2596-2602.
- <sup>265</sup> Volk HD, Reinke P, Döcke WD. Immunological monitoring of the inflammatory process: which variables? When to assess?. *Eur J Surg* 1999; 158: 70-72.
- <sup>266</sup> Bossink A, Groeneveld J, Thies L. Prediction of microbial infection and mortality in medical patients with fever: plasma procalcitonin, neutrophilic elastase- $\alpha_1$ -antitrypsin, and lactoferrin compared with clinical variables. *CID* 1999; 29: 398-407.
- <sup>267</sup> Hatherill M, Tibby SM, Sykes K, Turner C, Murdoch IA. Diagnostic markers of infection: comparison of procalcitonin with C reactive protein and leucocyte count. *Arch Dis Child* 1999; 81: 417-421.
- <sup>268</sup> Rey C, Los Arcos M, Concha A, Medina A, Prieto S, Martínez P, Prieto B. Procalcitonin and C-reactive protein as markers of systemic inflammatory syndrome severity in critically ill children. *Intensive Care Med* 2007; 33: 477-484.
- <sup>269</sup> Ugarte H, Silva E, Mercan D, De Mendonça A, Vincent JL. Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 1999; 27 (2): 498-504.
- <sup>270</sup> Castelli GP, Pognani C, Meisner M, Stuardi A, Bellomi D, Sgarbi L. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care* 2004; 8 (4): 234-242.
- <sup>271</sup> Chan YL, Tseng CP, Tsay PK, Chang SS, Chiu TF, Chen JC. Procalcitonin as a marker of bacterial infection in the emergency department: an observational study. *Crit Care* 2004; 8 (1): 12-20.

- 
- <sup>272</sup> Castelli GP, Pognani C, Cita M, Stuardi A, Sgarbi L, Paladini R. Procalcitonin, C-reactive protein, white blood cells and SOFA score in ICU: diagnosis and monitoring of sepsis. *Minerva Anestesiol* 2006; 72 (1-2): 69-80.
- <sup>273</sup> Lee YL, Park CH, Yun JW, Lee YS. Predictive comparisons of procalcitonin (PCT) level, arterial ketone body ratio (AKBR), APACHE III score and multiple organ dysfunction score (MODS) in systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Yonsei Med J* 2004; 45 (1): 29-37.
- <sup>274</sup> Gibot S, Massin F, Cravoisy D, Barraud D, Nace L, Levy B, Bollaert PE. High-mobility group box 1 protein plasma concentrations during septic shock. *Intensive Care Med* 2007; 25: 32.
- <sup>275</sup> Dorizzi R, Polati E, Sette P, Ferrari A, Rizzotti P, Luzzani A. Procalcitonin in the diagnosis of inflammation in intensive care units. *Clin Biochem* 2006; 26 (3): 254-261.
- <sup>276</sup> Clec'h C, Fosse JP, Karoubi P, Vincent F, Chouahi I, Hamza L, Cupa M, Cohen Y. Differential diagnostic value of procalcitonin in surgical and medical patients with septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34 (1): 102-107.
- <sup>277</sup> Gendrel D, Raymond J, Coste J, Moulin F, Lorrot M, Guérin S, Ravilly S, Lefèvre H, Royer C, Lacombe C, Palmer P, Bohuon C. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein, interleukin 6 and interferon-alpha for differentiation of bacterial vs. viral infections. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 875-881.
- <sup>278</sup> Fernández A, Luaces C, Valls C, Ortega J, García JJ, Mira A, Pou J. Procalcitonina para el diagnóstico precoz de infección bacteriana invasiva en el lactante febril. *An Esp Pediatr* 2001; 55: 321-328.
- <sup>279</sup> Stoll B, Gordon T, Korones SB, Shankaran S, Tyson JE, Bauer CR, Fanaroff AA, Lemons JA, Donovan EF, Oh W, Stevenson DK, Ehrenkranz RA, Papile L, Verter J, Wright L. Early-onset sepsis in very low birth weight neonates: A report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* 1996; 129 (1): 72-80.
- <sup>280</sup> Bohuon C, Gendrel D. La procalcitonine: nouvel indicateur d'infection bactérienne. Intérêt et perspectives. *Arch Pédiatr* 1999; 6: 141-144.
- <sup>281</sup> Monneret G, Labaune JM, Isaac C, Bienvenu F, Putet G, Bienvenu J. Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections. *Acta Paediatr* 1997; 86: 209-212.
- <sup>282</sup> Sachse C, Dressler F, Henkel E. Increased serum procalcitonin in newborn infants without infection. *Clin Chem* 1998; 44 (6): 1343-1344.

- 
- <sup>283</sup> Chiesa C, Panero A, Rossi N, Stegagno M, Giusti M, Osborn JF, Pacifico L. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 664-672.
- <sup>284</sup> Petzold L, Guibourdenche J, Boissinot C, Benoist JF, Luton D, Demelier JF, Poquet D. Apport de la procalcitonine dans le diagnostic des infections materno-fœtales. *Ann Biol Clin* 1998; 56 (5): 599-602.
- <sup>285</sup> López J, Pérez D, Roqués V, Fernández B, Coto G, Grupo de Hospitales Castrillo. Evaluation of procalcitonin for diagnosis of neonatal sepsis of vertical transmisión. *BMC Pediatr* 2007; 7: 9-17.
- <sup>286</sup> Chiesa C, Pacifico L, Mancuso G, Panero A. Procalcitonin in pediatrics: Overview and challenge. *Infection* 1998; 26 (4): 236-241.
- <sup>287</sup> Bustos RO. Procalcitonina, proteína C reactiva y recuento leucocitario en recién nacidos de muy bajo peso con sepsis neonatal tardía. *Med Clin (Barc)* 2007; 66 (5): 538-544.
- <sup>288</sup> Kuhn P, Escande B, Rivera S, Langlet C, Messer J. Procalcitonine et infection néonatale. *Arch Pédiatr* 2004; 11(6): 585-586.
- <sup>289</sup> Kordek A, Giedrys-Kalemba S, Pawlus B, Podraza W, Czajka R. Umbilical cord blood serum procalcitonin concentration in the diagnosis of early neonatal infection. *J Perinatology* 2003; 23: 148-153.
- <sup>290</sup> Joram N, Boscher C, Denizot S, Loubersac V, Winer N, Roze JC, Gras-Le-Guen C. Umbilical cord blood procalcitonin and C reactive protein concentrations as markers for early diagnosis of very early onset neonatal infection. *Arch dis Child Fetal Neonatal* 2006; 91: 65-66.
- <sup>291</sup> Pérez D, López JB, Coto GD, Diéguez M<sup>a</sup> A, Deschamps E M<sup>a</sup>, Crespo M. Procalcitonina para el diagnóstico de sepsis neonatal de origen nosocomial. *An Pediatr (Barc)* 2006; 64 (4): 349-353.
- <sup>292</sup> Turner D, Hammerman C, Rudensky B, Schlesinger Y, Schimmel MS. The role of procalcitonin as a predictor of nosocomial sepsis in preterm infants. *Acta Paediatr* 2006; 95: 1571-1576.
- <sup>293</sup> Verboon-Maciolek MA, Thijsen S, Hemels M, Menses M, Van Loon A, Krediet T, Gerardo L, Fleer A, Voorbij H, Rijkers G. Inflammatory mediators for the diagnosis and treatment of sepsis in early infancy. *Pediatr Res* 2006; 59 (3): 457-461.
- <sup>294</sup> Gendrel D. Marqueurs biochimiques de l'infection bactérienne. *Arch Pédiatr* 2000; 7 (2S): 322-324.

- 
- <sup>295</sup> Gendrel D, Assicot M, Raymond J, Moulin F, Francoual C, Badoual J, Bohuon C. Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of neonatal infection. *J Pediatr* 1996; 128 (4): 570-573.
- <sup>296</sup> Marchini G, Berggren R, Djilali-Merzoug R, Hansson L-O. The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus newborn infant. *Acta Paediatr* 2000; 89:1082-1089.
- <sup>297</sup> Weinberg GA, Powell KR. Laboratory Aids for the diagnosis of neonatal sepsis. 1327-1344.
- <sup>298</sup> Chiesa C, Panero A, Osborn JF, Simonetti AF. Diagnosis of neonatal sepsis: A clinical and laboratory challenge. *Clin Chem* 2004; 50 (2): 279-287.
- <sup>299</sup> Name O, Fernández A, Luaces C. Procalcitonina: una nueva herramienta diagnóstica en la infección bacteriana. *Med Clin (Barc)* 2002; 119 (18): 707-714.
- <sup>300</sup> Matesanz JL, Fernández E, Fernández JM, Viejo G. Plasma procalcitonin and C-reactive protein concentrations in pediatric patients with Epstein-Barr virus infection. *Clin Chem* 2003; 49 (12): 2103-2104.
- <sup>301</sup> Recomendaciones GEIPC-SEIMC y GTEI-SEMICYUC para el tratamiento antibiótico de infecciones por cocos grampositivos en el paciente crítico. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007; 25 (7): 446-466.
- <sup>302</sup> Estudio Nacional de vigilancia de infección nosocomial en unidades de cuidados intensivos. Informe evolutivo de los años 2003-2005. *Med Intensiva* 2007; 31 (1): 6-17.
- <sup>303</sup> C- reactive protein is an independent predictor of severity in community-acquired pneumonia. *Am J Med* 2008; 121 (3): 219-225.
- <sup>304</sup> Inter-observer agreement in interpreting chest X-rays on children with acute lower respiratory tract infections and concurrent wheezing. *Sao Paulo Med J* 2007; 125 (3): 150-154.
- <sup>305</sup> Cisneros-Herreros JM, Sánchez-González M, Prados-Blanco MT, Llanos-Rodríguez C, Vigil-Martin E, Soto-Espinosa de los Monteros B, pachón-Díaz J. Hemocultivos en el Servicio de Urgencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23 (3): 135-139.
- <sup>306</sup> Waltzman ML, Harper M. Financial and clinical impact of false-positive blood culture results. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 296-299.
- <sup>307</sup> Mateos A. Pruebas microbiológicas en las neumonías comunitarias: ¿Necesitamos esputo y hemocultivos en todos los pacientes?. *Pneuma* 2007; 8: 30-32.
- <sup>308</sup> Coto G.D, Ibáñez A. Protocolo diagnóstico-terapéutico de la sepsis neonatal. *Bol Pediatr* 2006; 46 (S1): 125-134.

---

<sup>309</sup> Santuz P, Soffiati M, Dorizzi RM, Benedetti M, Zaglia F, Biban P. Procalcitonin for the diagnosis of early-onset neonatal sepsis: A multilevel probabilistic approach. Clin Biochem 2008; In press.

<sup>310</sup> Rubin L, Sánchez P, Siegel J, Levine G, Saiman L, Jarvis W. Evaluation and treatment of neonates with suspected late-onset sepsis: A survey of neonatologists' practices. Pediatrics 2002; 110 (4): 1-7.